

BAB V

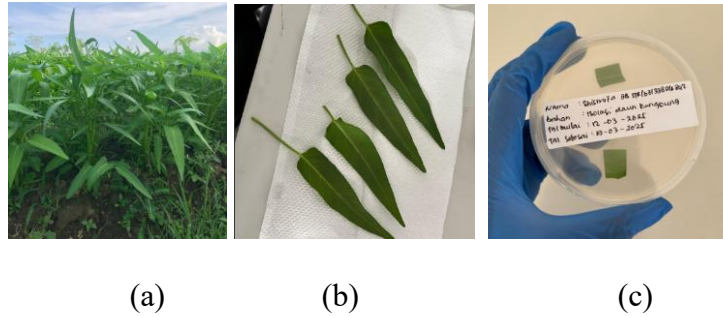
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik objek penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*). Daun kangkung darat yang digunakan memenuhi kriteria inklusi, yaitu berwarna hijau segar, tidak menunjukkan adanya kontaminasi jamur, serta bebas dari kerusakan fisik seperti lubang atau sobekan. Tanaman kangkung darat yang menjadi sumber sampel diperoleh dari lahan pertanian organik yang terletak di wilayah tropis, tepatnya di Desa Bongkasa, sebuah desa agraris yang berada di Kabupaten Badung, Provinsi Bali, Indonesia. Lokasi ini memiliki iklim tropis lembap dengan curah hujan dan suhu yang mendukung pertumbuhan tanaman hortikultura, termasuk kangkung darat, secara optimal tanpa penggunaan pestisida atau pupuk kimia sintetis

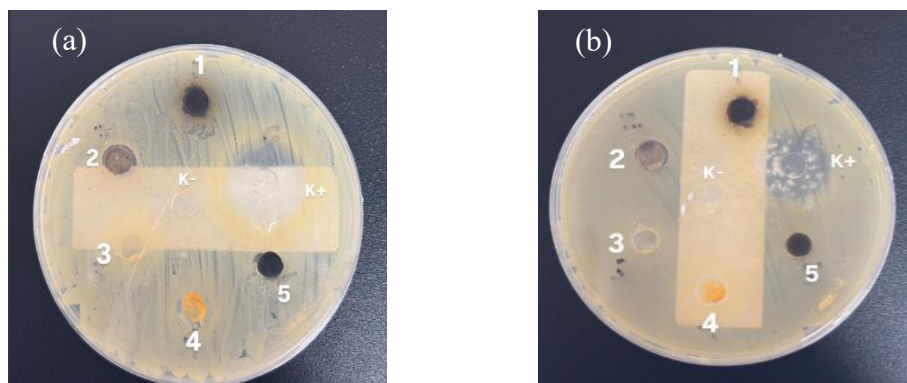
Dalam pembuatan isolat jamur endofit dari daun kangkung di sterilisasi dengan mencuci daun dengan air mengalir dan merendamnya ke alkohol 70% selama 1 menit kemudian daun dipotong pada ukuran 1 x 1 cm dan diletakkan di media PDA dan di inkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Setelah 7 hari jamur yang sudah tumbuh pada media PDA akan dimurnikan kembali sesuai dengan jenis koloninya ke media PDA baru kemudian diinkubasi kembali pada suhu ruang selama 7 hari. Setelah 7 hari terdapat isolat murni jamur endofit dari daun kangkung yang kemudian di ujikan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan empat kali ulangan.

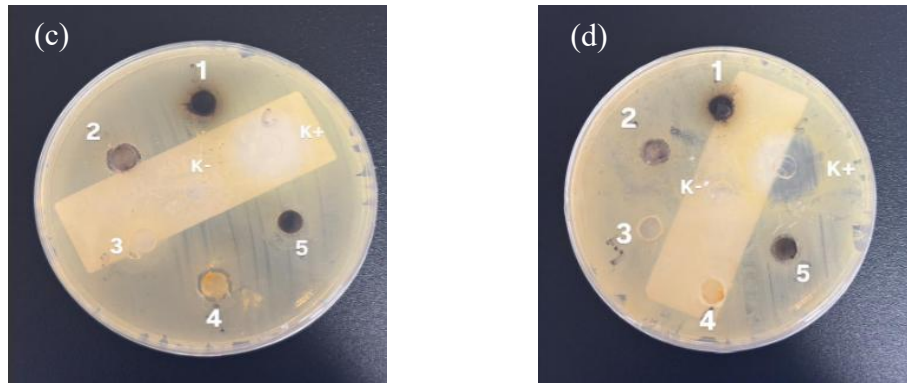


Gambar 8 (a) Tanaman Kangkung, (b) Daun kangkung steril, (c) Daun kangkung ukuran 1 x 1 cm pada media PDA

2. Uji aktivitas antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Isolat jamur yang memiliki jenis yang berbeda berkontribusi pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Tes ini dilakukan empat kali pengulangan menggunakan metode agar plug dimana jamur endofit akan direaksikan langsung dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Bentuk zona hambat di sekitar lubang sumuran pada media Muller Hilton Agar menunjukkan kemampuan jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat ini digambarkan pada gambar berikut :





Gambar 9 Hasil zona hambat (a) Zona hambat kelima isolat, kontrol positif dan kontrol negatif pada pengulangan 1, (b) Zona hambat pengulangan 2, (c) Zona hambat pengulangan 3, (d) Zona hambat pengulangan 4

Aktivitas antibakteri isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung ditunjukkan oleh zona bening yaitu zona bersih tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri. Berdasarkan gambar 9 diatas dapat diketahui dari 5 jenis isolat hanya terdapat 2 jenis isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada kode isolat 2 dan 4.

3. Diameter zona hambat kontrol positif, kontrol negatif dan variasi isolat jamur endofit

Data hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kontrol positif, kontrol negatif dan lima jenis isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat sebanyak 4 kali ulangan dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini.

Tabel 3
Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri
***Staphylococcus aureus* pada kontrol positif, negatif dan berbagai jenis isolat**
jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*)

Perlakuan	Pengulangan				Rerata $\pm$ SD	Kategori Zona Hambat
	I	II	III	IV		
Kloramphenikol	14,04	14,61	12,03	14,515	13,80 $\pm$ 1,21	Kuat
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	Tidak ada
Kode isolat 1 (<i>Aspergillus</i> sp.)	0	0	0	0	0	Tidak ada
Kode isolat 2 (<i>Aspergillus niger</i>)	3,21	1,1	2,25	2,76	2,33 $\pm$ 0,91	Lemah
Kode isolat 3 (<i>Rhizopus</i> sp.)	0	0	0	0	0	Tidak ada
Kode isolat 4 (<i>Chepalosporium</i> sp)	5,6	4,2	3,72	3,69	4,30 $\pm$ 0.90	Lemah
Kode isolat 5 (<i>Mucor</i> sp.)	0	0	0	0	0	Tidak ada

Berdasarkan tabel 3 diatas dapat diketahui dari 4 kali pengulangan, kontrol positif memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13,80 mm $\pm$ 1,21 dengan diameter zona hambat terkecil pada ulangan ke 3 dengan zona hambat 12,03 mm dan zona hambat terbesar pada ulangan ke 2 dengan zona hambat 14,61 mm. Kemampuan menghambat kontrol positif berdasarkan termasuk ke dalam kategori kemampuan menghambat kuat.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramphenikol 250 mg merupakan antibiotik yang digunakan untuk mengatasi infeksi akibat *Staphylococcus aureus* (Muladifah, dkk., 2019). Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol kerja yang digunakan sebagai pembanding hasil pemeriksaan, apabila nantinya kelompok perlakuan menghasilkan hasil positif atau menunjukkan

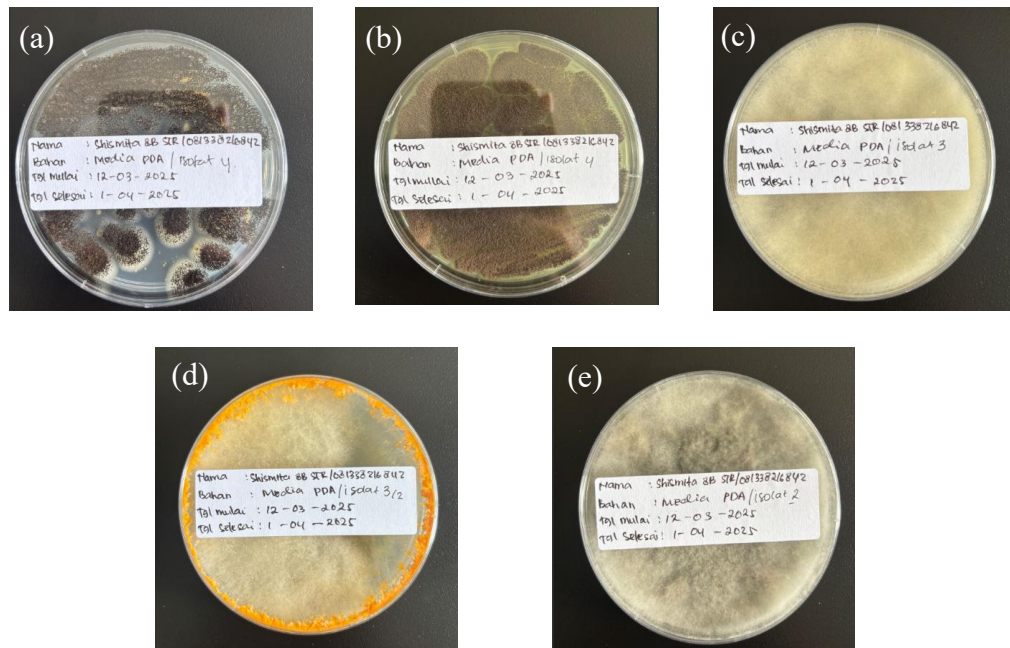
terbentuknya zona hambat dan mengontrol sterilitas prosedur ke rja. Kontrol positif diuji duplo dengan 4 kali ulangan.

Kontrol negatif dalam penelitian ini adalah media PDA standar yaitu bubuk media PDA dengan aquadest. Kontrol negatif dilakukan untuk memastikan bahwa bahan lain tidak memiliki sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Ini berarti bahwa senyawa aktif dalam jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat dapat menjadi sumber zona hambat yang muncul selama perawatan. Berdasarkan tabel 3 diatas dapat diketahui kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan tabel 3 diatas dapat diketahui isolat jamur endofit yang diisolasi dari kangkung darat dengan kode nomor 2 dan 4 memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dapat terlihat isolat jamur endofit yang dengan kode 2 memiliki zona bening disekitarnya yang berarti terdapat senyawa aktif pada isolat kode 2 dan 4 yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat $2,33 \text{ mm} \pm 0,91$ pada kode isolat 2 dan $4,30 \text{ mm} \pm 0.90$ pada kode isolat 4. Kemampuan isolat 2 dan 4 dalam menghambat termasuk ke dalam kategori lemah.

4. Identifikasi makroskopis isolat jamur endofit

Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologis yang dilakukan melalui pengamatan makroskopis dan mikroskopis, kelima isolat jamur endofit menunjukkan karakteristik yang beragam. Secara makroskopis, perbedaan tampak jelas dari warna koloni, tekstur permukaan, tepi koloni pada media PDA, dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar10. Identifikasi Makroskopis Isolat Murni Jamur Endofit. (a) Isolat jamur kode 1, (b) isolat jamur kode 2, (c) isolat jamur kode 3, (d) isolat jamur kode 4, (e) isolat jamur kode 5.

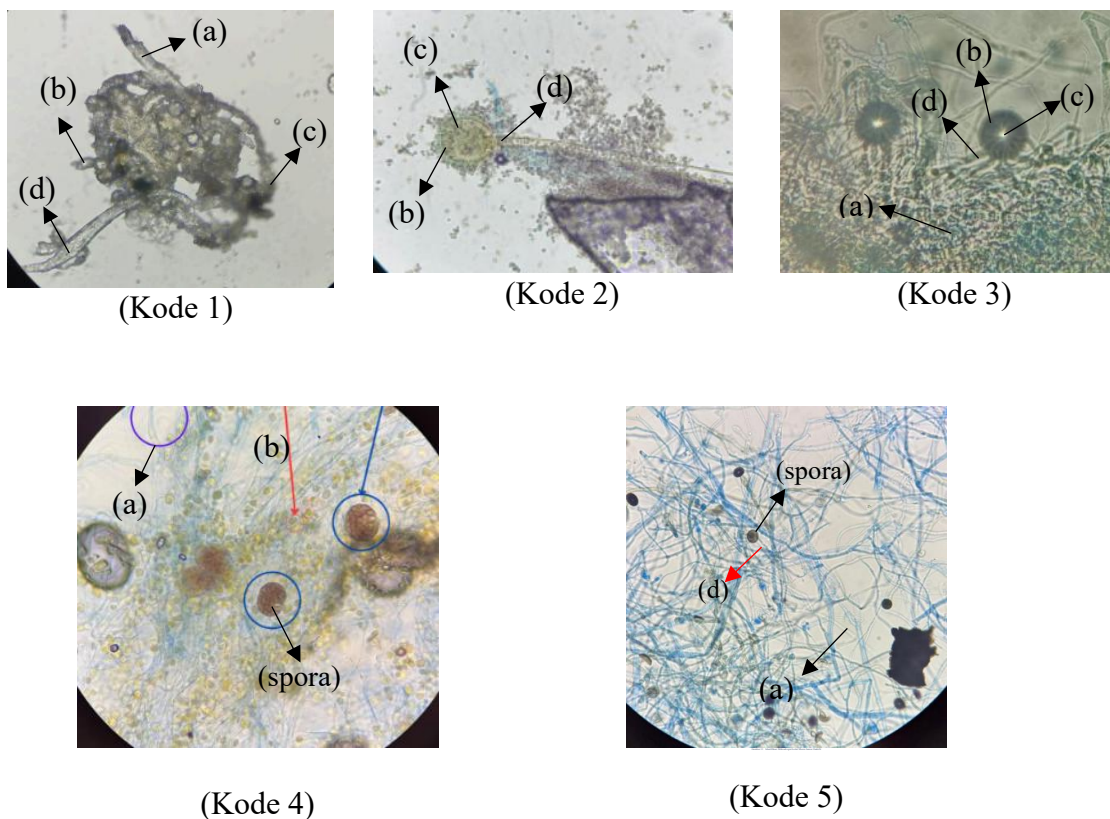
Tabel 4

Hasil identifikasi makroskopis isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat

Kode Isolat	Warna	Bentuk Permukaan	Tekstur Permukaan	Eksudat
1	Hitam keabu-abuan	Bulat dengan batas putih	Powdery	Tidak ada
2	Coklat kehijauan	Menyebar tidak teratur	Powdery	Tidak ada
3	Putih susu	Menyebar rata	Cattony	Tidak ada
4	Putih dan orange	Menyebar tidak teratur	Cattony	Tidak ada
5	Abu kehitaman	Menyebar rata	Cattony	Tidak ada

5. Identifikasi makroskopis isolat jamur endofit

Identifikasi mikroskopis dilakukan guna memperoleh gambaran morfologi spesimen secara lebih rinci dan akurat, yang tidak dapat diamati melalui pengamatan makroskopis. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran tertentu untuk melihat struktur seluler yang menjadi karakteristik spesifik dari sampel yang diamati. Parameter yang diamati meliputi bentuk, ukuran, serta keberadaan struktur khusus yang mendukung proses identifikasi. Hasil lengkap dari identifikasi mikroskopis dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut:



Gambar11. Identifikasi Mikroskopis Isolat Murni Jamur Endofit. (a) hifa, (b) konidia, (c) vesikel, (d) konidiofor.

Tabel 4
Hasil identifikasi mikroskopis isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat

Kode Isolat	Hifa	Konidia	Vesikel	Konidiofor	Genus
1	Bersekat (Septat)	Lonjong asimetris	Lonjong asimetris	Besar bercabang dan bening	Aspergillus sp.
2	Bersekat (Septat)	Bulat besar	Bulat di dalam konidia	Panjang tegak dan lurus	Aspergillus niger
3	Tidak bersekat (aseptate)	Bulat besar (spora)	Bulat kecil	Besar dan tegak (sporangiofor)	Rhizopus sp.
4	Bersekat (septat)	Lonjong seperti telur	Tidak memiliki vesikel	Ramping dan bercabang	Chepalosporium sp.
5	Tidak bersekat (aseptate)	Bulat berwarna keabu-abuan (spora)	Tidak memiliki vesikel	Tegak tidak bercabang	Mucor sp.

6. Analisis data

Selanjutnya, hasil pengukuran diameter zona hambat yang dihasilkan dari penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik dengan bantuan program komputer. Uji pertama yang dilakukan adalah menguji distribusi data dengan menggunakan uji Normalitas *Shapiro-Wilk*. Data penelitian dinyatakan berdistribusi normal apabila memiliki nilai signifikansi probabilitas ($p \text{ value}$) $> \alpha$ (0,05). Hasil uji Normalitas *Shapiro-Wilk* pada data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai jenis isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 5
Hasil Uji Shapiro-Wilk

Diameter Zona Hambat	Statistic	df	Sig.
Isolat 2	0,882	4	0,345
Isolat 4	0,752	4	0,040
Kontrol Positif	0,646	4	0,002

Berdasarkan tabel 7 tersebut diperoleh nilai signifikansi probabilitas (p) 0,345 pada Isolat 2 dan 0,040 pada isolat 0,040 dan pada kontrol positif dengan nilai 0,002. Nilai probabilitas tersebut lebih kecil dari (0,05), sehingga menunjukkan data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdistribusi tidak normal.

Karena data zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tidak berdistribusi normal, maka uji dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal wallis*. Hasil dinyatakan terdapat perbedaan apabila nilai probabilitas (p value) $< \alpha$ (0,05). Hasil uji *Kruskal-wallis* dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 6
Hasil Uji Kruskal-wallis

	Diameter Zona hambat
Chi-Square	26,183
df	0
Asymp. Sig	0,000

Pada uji Kruskal wallis diperoleh nilai probabilitas (p) 0,000, nilai tersebut $< \alpha$ (0,05) sehingga dapat dinyatakan terdapat perbedaan bermakna yang disebabkan

oleh aktivitas antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian kemudian dilanjutkan analisis dengan uji *Post-hoc* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan secara bermakna atau signifikan. Hasil dinyatakan terdapat perbedaan apabila nilai probabilitas (*p value*) $< \alpha$ (0,05). Hasil uji *Post-hoc* dapat dilihat dari tabel berikut:

Tabel 7
Hasil Uji Post-hoc

Sample 1	Sample 2	Sig	Keterangan
Kontrol positif	Isolat 1	0,013	$P < \alpha$ (0,05)
	Isolat 2	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 3	0,013	$P < \alpha$ (0,05)
	Isolat 4	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 5	0,013	$P < \alpha$ (0,05)
	Kontrol negatif	0,013	$P < \alpha$ (0,05)
Kontrol negatif	Isolat 1	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 2	0,597	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 3	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 4	0,362	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 5	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
Isolat 1	Isolat 2	0,597	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 3	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 4	0,362	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 5	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
Isolat 2	Isolat 3	0,597	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 4	0,362	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 5	0,597	$P > \alpha$ (0,05)
Isolat 3	Isolat 4	0,362	$P > \alpha$ (0,05)
	Isolat 5	1,000	$P > \alpha$ (0,05)
Isolat 4	Isolat 5	0,362	$P > \alpha$ (0,05)

Berdasarkan hasil uji *post hoc* pada tabel 9 hasil analisis menunjukkan bahwa isolat yang memiliki nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05, yaitu pada Kontrol positif dengan isolat 1, 3 dan 5, sehingga hipotesis nol (H_0) ditolak. Penolakan H_0 Artinya,

terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dan ketiga isolat tersebut, yang mengindikasikan bahwa isolat 1, 3, dan 5 memiliki efektivitas antibakteri yang secara nyata lebih rendah dibandingkan kontrol positif, dan dengan demikian ketiga isolat tersebut tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Sementara itu, perbandingan antara isolat-isolat lain maupun terhadap kontrol negatif tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan karena nilai *Adj. Sig.* > 0.05.

B. Pembahasan

Dalam penelitian ini, dilakukan pengujian terhadap potensi antibakteri jamur endofit yang diisolat dari daun kangkung darat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dimulai dari pembuatan media uji dan dilakukan pemilihan bahan uji yaitu daun kangkung darat yang diambil langsung di pertanian. Kemudian daun kangkung disterilisasi dan dilakukan isolasi jamur endofit pada media PDA yang kemudian diinkubasi selama 7 hari. Setelah 7 hari di inkubasi jamur yang tumbuh dimurnikan kembali agar mendapat koloni jamur yang berbeda. Kandidat isolat jamur tersebut diujikan antibakteri dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC-29213. Karakteristik objek penelitian, pengukuran diameter zona hambat, identifikasi isolat jamur serta analisis data akan dijelaskan berikut ini.

1. Objek penelitian, isolasi jamur endofit dan pemurnian jamur endofit

Jamur endofit yang dipilih dalam penelitian ini merupakan jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*) yang berumur tidak tua, berwarna hijau segar, tidak berlubang atau bekas dimakan serangga dan yang

ditanaman pada lahan organik. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Ariyono, Djauhari and Sulistyowati, 2014) yang melakukan isolasi jamur endofit dari tanaman kangkung diketahui bahwa jamur endofit yang ditanaman pada lahan organik memiliki jenis jamur endofit yang lebih beragam dibanding lahan konvensional. Kemudian penelitian lain yang dilakukan oleh (Kurniati *et al.*, 2024) terhadap beberapa daun tanaman didapatkan hasil bahwa tanaman muda memiliki senyawa metabolit yang lebih banyak.

Tanaman kangkung yang sehat dipanen dan dibawa ke laboratorium menggunakan coolbox kemudian dilakukan sterilisasi dengan air mengalir dan alkohol 70% selama 1 menit. Sterilisasi daun sebelum isolasi jamur endofit bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme (seperti jamur dan bakteri) yang menempel di permukaan daun, sehingga jamur yang berhasil diisolasi benar-benar berasal dari dalam jaringan daun (endofit), bukan dari kontaminan luar. (Suhartina, Kandou and Singkoh, 2018)

Daun kangkung yang telah disterilkan terlebih dahulu dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm. Menurut penelitian (Angelin *et al.*, 2022) pemotongan sampel dengan ukuran tersebut untuk mempermudah proses penumbuhan jamur endofit dari jaringan dalam daun. Potongan daun tersebut kemudian diletakkan secara hati-hati pada media Potato Dextrose Agar (PDA) yang telah dicampur dengan antibiotik guna mencegah pertumbuhan bakteri atau patogen lain yang dapat mengganggu proses isolasi. Menurut (Cantika, Pakadang and Salasa, 2024) penggunaan antibiotik dalam media ini penting untuk memastikan bahwa jamur yang tumbuh berasal dari dalam jaringan tanaman, bukan kontaminan luar. Setelah penanaman, cawan petri berisi media dan potongan daun diinkubasi pada suhu ruang, yaitu

sekitar 25–28°C. Proses inkubasi dilakukan selama 7 hari untuk memberikan waktu yang cukup bagi jamur endofit tumbuh dan berkembang sehingga dapat diamati dan diisolasi lebih lanjut (Wahyuni, Praktika Rosa and Murdiah, 2019).

Jamur yang sudah tumbuh pada media kemudian dilakukan pemurnian dengan tujuan mendapatkan koloni jamur yang berbeda dan bebas dari kontaminan. Pemurnian ini dilakukan agar setiap isolat yang diperoleh berasal dari satu jenis jamur yang jelas. Pada penelitian ini didapatkan hasil 10 jenis jamur endofit yang berbeda, namun hanya 5 isolat yang dimurnikan karena hanya 5 isolat yang akan di ujikan antibakteri. Kriteria pemilihan isolat jamur yang akan diuji antibakteri yaitu yang memiliki koloni yang tumbuh merata atau yang memiliki koloni bulat sempurna. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh (Ariyono, Djauhari and Sulistyowati, 2014) yang mengisolasi jamur endofit dari tanaman kangkung darat didapatkan hasil 12 jenis jamur endofit murni dengan total 60 koloni jamur.

2. Ukuran dan perbedaan diameter zona hambat isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipmoea reptans*).

Aktivitas antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat pada penelitian ini diuji dengan metode agar plug. Metode ini sederhana dan praktis karena tidak memerlukan proses ekstraksi metabolit, cukup dengan memotong bagian media (agar) yang mengandung jamur aktif dan meletakkannya di atas media yang telah ditumbuhi bakteri uji. Hal ini memungkinkan senyawa metabolit yang dihasilkan jamur dapat berdifusi secara langsung ke lingkungan sekitar, sehingga zona hambat yang terbentuk benar-benar mencerminkan aktivitas antibakteri alami dari jamur tersebut.

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter area bening yang terbentuk di sekitar sumber antibakteri. Zona bening ini menunjukkan daerah di mana pertumbuhan bakteri berhasil dihambat. Menurut (Simanjuntak *et al.*, 2022) semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, semakin kuat kemampuan antimikroba dari sampel yang diuji. Artinya, ukuran zona hambat dapat digunakan sebagai indikator efektivitas suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dengan demikian, semakin luas zona hambat yang muncul, semakin tinggi pula potensi antibakteri dari senyawa tersebut.

Dalam penelitian ini, terdapat lima isolat jamur dan dua kontrol yang diuji, yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif menggunakan media agar PDA tanpa penambahan antibiotik, yang berfungsi untuk memastikan bahwa bahan-bahan tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga apabila terbentuk zona hambat pada perlakuan, dapat dipastikan bahwa penghambatan berasal dari senyawa aktif yang terkandung dalam isolat jamur endofit. Hasil pengujian pada kontrol negatif menunjukkan tidak adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil pengukuran sebesar 0 mm.

Untuk mengontrol proses kerja dan validitas metode, digunakan kontrol positif berupa antibiotik kloramfenikol 250 mg yang dicampurkan ke dalam media PDA. Kloramfenikol dikenal sebagai antibiotik yang efektif melawan berbagai bakteri Gram-positif, termasuk *Staphylococcus aureus*, yang diketahui memiliki banyak strain resisten terhadap antibiotik. Kontrol positif ini berfungsi sebagai

pembandingan terhadap hasil perlakuan dan untuk memastikan sterilitas serta konsistensi prosedur kerja.

Hasil uji kontrol positif menunjukkan adanya kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar $13,80 \text{ mm} \pm 1,21$, dengan zona hambat terkecil sebesar $12,03 \text{ mm}$ pada ulangan ketiga dan terbesar sebesar $14,61 \text{ mm}$ pada ulangan kedua. Berdasarkan nilai tersebut, kemampuan hambat kontrol positif dikategorikan dalam tingkat penghambatan yang kuat, sekaligus membuktikan bahwa seluruh tahapan uji antibakteri telah berjalan dengan baik dengan kondisi bakteri, media, lingkungan kerja, serta faktor-faktor lain yang memengaruhi aktivitas zat uji tetap terjaga dan terkontrol selama proses pengujian.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari lima isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*), hanya isolat 2 dan isolat 4 yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat masing-masing sebesar $2,33 \text{ mm} \pm 0,91$ dan $4,30 \text{ mm} \pm 0,90$. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ningsih, 2017), di mana dari tujuh isolat jamur yang diuji menggunakan metode agar plug, hanya dua isolat yang menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Perbandingan ini menunjukkan bahwa tidak semua isolat jamur endofit memiliki potensi antibakteri, dan hanya sebagian kecil yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Hasil uji beda dengan uji Kruskal wallis diperoleh nilai probabilitas (p) 0,000, nilai tersebut $< \alpha$ (0,05) sehingga dapat dinyatakan terdapat perbedaan bermakna zona hambat yang disebabkan oleh aktivitas antibakteri isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan secara bermakna atau signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji *Post-hoc* yang dapat dilihat pada tabel 9.

Isolat jamur endofit dari tanaman kangkung darat (*Ipomoea reptans*) terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri, yang mengindikasikan adanya senyawa aktif di dalamnya. Senyawa tersebut diduga berupa metabolit sekunder yang diproduksi selama jamur tumbuh di jaringan tanaman dan berdifusi ke medium sekitarnya dalam metode uji agar plug. Penelitian oleh (Handayani, Pratiwi and Fajrina, 2019) menunjukkan bahwa *Trichoderma koningiopsis*, jamur endofit dari mangrove, mampu menghasilkan metabolit antimikroba yang berdifusi dan menghambat *Staphylococcus aureus*. Hasil serupa juga dilaporkan oleh (Setiawan and Musdalipah, 2018), di mana isolat jamur endofit dari daun beluntas menunjukkan aktivitas antibakteri melalui senyawa bioaktif yang tersebar dalam medium. Dengan demikian, aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh jamur endofit dari kangkung darat sejalan dengan berbagai penelitian yang menunjukkan peran penting metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Beberapa isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat yang tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji yaitu pada isolat 1, 3 dan 5, dapat disebabkan oleh rendahnya produksi metabolit sekunder yang

memiliki aktivitas antibakteri atau karena senyawa yang dihasilkan tidak efektif terhadap jenis bakteri yang diuji. Sebagai contoh, penelitian (Ramadhan, Bintang and Agusta, 2019) menunjukkan bahwa dari tiga fraksi senyawa yang diisolasi dari jamur endofit 20DnSi-1, hanya satu fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terhadap *Staphylococcus aureus*, sementara dua fraksi lainnya memiliki aktivitas yang lemah atau tidak signifikan terhadap *Escherichia coli*.

Tidak adanya aktivitas antibakteri disebabkan karena kurangnya senyawa aktif yang terkandung dalam isolat jamur, karena seiring berjalannya waktu senyawa aktif yang terkandung akan terus berdifusi kedalam media dan jika semakin jauh pergerakannya dari cakram, konsentrasinya menjadi semakin rendah sehingga tidak lagi memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri. Fenomena ini didukung oleh penelitian yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi senyawa antibakteri tidak selalu berbanding lurus dengan luas zona hambat.

Dalam studi yang dilakukan oleh (Mintarti and Kusumah, 2017) mengenai senyawa MAG dan MDAG, peningkatan konsentrasi hingga 200 mg/ml meningkatkan aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, namun peningkatan lebih lanjut justru menurunkan zona hambat, kemungkinan karena kemampuan difusi yang rendah pada konsentrasi tinggi. Demikian pula, penelitian yang dilakukan oleh (Wulandari *et al.*, 2024) ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) menunjukkan aktivitas antibakteri yang melemah seiring waktu, dengan zona hambat maksimal sebesar 2 mm pada konsentrasi 10.000 ppm dalam 24 jam pertama, namun efek antibakteri menurun setelahnya. Dengan demikian, tidak terbentuknya zona hambat dalam metode agar

plug tidak selalu menunjukkan ketiadaan aktivitas antibakteri, melainkan dapat disebabkan oleh rendahnya konsentrasi senyawa aktif

Kategori diameter zona hambat suatu bahan alam terhadap bakteri uji dalam penelitian ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut, ≤ 5 mm termasuk kategori lemah, 5 – 10 mm sedang, 10 – 20 mm termasuk ke dalam kategori kuat, dan ≥ 21 mm termasuk ke dalam kategori daya hambat sangat kuat (Dion *et al.*, 2021). Berdasarkan klasifikasi tersebut, kemampuan jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kemampuan menghambat lemah.

3. Identifikasi isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*).

Identifikasi makroskopis dan mikroskopis merupakan langkah penting dalam karakterisasi isolat jamur endofit untuk mengetahui morfologi serta potensi jenisnya. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat ciri-ciri koloni seperti warna, tekstur, bentuk tepi, dan pola pertumbuhan pada media kultur. Sementara itu, identifikasi mikroskopis bertujuan untuk mengamati struktur hifa, spora, dan organ reproduksi jamur di bawah mikroskop. Identifikasi makroskopis dilakukan pada hari ke-7 pertumbuhan karena pada waktu tersebut koloni jamur umumnya telah mencapai fase optimal dan stabil, sehingga bentuk dan struktur koloni masih representatif untuk diamati.

Pada ciri-ciri isolat jamur kode 1 tabel 5 dan 6, isolat jamur endofit kode 1 menunjukkan karakteristik morfologi makroskopis dan mikroskopis yang menyerupai genus *Aspergillus* sp. Penelitian sebelumnya mendukung temuan ini,

di mana aktivitas antibakteri jamur endofit *Aspergillus* sp. berkorelasi dengan fase pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder. Seperti studi yang dilakukan oleh (Hussein *et al.*, 2022) mengidentifikasi metabolit antibakteri dari *Aspergillus fumigatus* yang diisolasi dari daun *Albizia lucidior*, menunjukkan bahwa produksi senyawa aktif terjadi selama fase pertumbuhan tertentu.

Berdasarkan karakteristik morfologi dan mikroskopis, isolat jamur kode 2 menunjukkan ciri khas genus *Aspergillus*, khususnya *Aspergillus niger*, yang dikenal memiliki vesikel besar dengan konidia berwarna gelap tersusun rapat. Isolat jamur endofit dengan kode 2 ini memiliki zona hambat yang lemah karena *Aspergillus niger* mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder. Selain itu, jamur ini memproduksi enzim seperti kitinase dan glukonase yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme lain, termasuk bakteri, sehingga memperkuat potensi antagonistiknya. Penelitian oleh (Wei *et al.*, 2022) juga menunjukkan bahwa spesies *Aspergillus niger* merupakan sumber potensial metabolit bioaktif dengan aktivitas antibakteri. Dengan demikian, isolat jamur kode 2 memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami melalui produksi metabolit sekunder dan enzim yang merusak dinding sel bakteri.

Isolat jamur kode 3 yang menunjukkan ciri morfologi menyerupai *Rhizopus* sp. dan yang tidak menunjukkan aktivitas antibakteri dalam penelitian ini. Hal ini berbeda dengan temuan (Virgianti, 2015), yang melaporkan bahwa *Rhizopus* sp. dari tempe memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri enterik seperti *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella flexneri*. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh variasi spesies atau strain *Rhizopus*, karena tidak semua strain menghasilkan senyawa antibakteri secara konsisten atau dalam jumlah yang

efektif. Faktor genetik, seperti keberadaan klaster gen penghasil metabolit antibakteri seperti rhizoxin, juga berperan penting dalam aktivitas antibakteri *Rhizopus*. Selain itu, beberapa bakteri memiliki mekanisme resistensi terhadap senyawa yang dihasilkan *Rhizopus*, sehingga pertumbuhan bakteri tetap tidak terhambat meskipun senyawa tersebut ada.

Jamur endofit isolat kode 4 yang diamati menunjukkan morfologi mikroskopis menyerupai genus *Cephalosporium*, yang dikenal sebagai penghasil antibiotik cephalosporin. Meskipun zona hambat antibakterinya lemah, struktur hifa yang luas dan aktif mendukung produksi senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Kemungkinan rendahnya aktivitas antibakteri disebabkan oleh fase pertumbuhan yang belum mencapai puncak produksi metabolit atau konsentrasi senyawa yang belum optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Fenomena serupa dilaporkan oleh (Techaoei *et al.*, 2020), yang menemukan bahwa aktivitas antibakteri tertinggi dari jamur endofit terjadi pada hari ke-4 fermentasi, dan menurun seiring waktu.

Berdasarkan pengamatan morfologi mikroskopis, isolat jamur kode 5 kemungkinan besar termasuk dalam genus *Mucor* *sp.*, yang umumnya dikenal sebagai dekomposer dan tidak menghasilkan senyawa antibakteri secara signifikan. Hal ini menjelaskan ketiadaan zona hambat pada uji antibakteri isolat tersebut. Namun, studi oleh (Deshmukh *et al.*, 2022) menunjukkan bahwa *Mucor irregularis*, endofit dari *Moringa stenopetala*, mampu menghasilkan senyawa flavonoid dan klorflavonin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Meskipun demikian, kemampuan ini bersifat spesifik dan tidak umum ditemukan pada semua spesies *Mucor*. Dengan demikian, isolat

kode 5 kemungkinan tidak memiliki potensi antibakteri yang signifikan, meskipun genus *Mucor* secara keseluruhan memiliki potensi yang perlu dieksplorasi lebih lanjut.