



ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT PADA DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DENGAN POTENSI ANTIBAKTERI TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENDOPHYTE FUNGI ON RED BETEL LEAVES (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) WITH ANTIBACTERIAL POTENTIAL AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*

Santa Gracia Siregar^{1*}, Ahmad Shafwan S. Pulungan²

**)Corresponding Author*

Universitas Negeri Medan

*Email: siregarsantagracia@gmail.com.

ABSTRAK

Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) merupakan tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat karena dapat mengobati berbagai macam penyakit, di antaranya sebagai antikanker, mengobati gangguan pencernaan, antioksidan hingga berpotensi sebagai antibakteri. Daun sirih merah berpotensi sebagai antibakteri karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder aktif. Pemanfaatan jamur endofit termasuk salah satu mencegah kelangkaan. Jamur endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi jamur endofit pada daun sirih merah dan mengetahui potensi yang dihasilkan jamur endofit sebagai antibakteri. Metode yang digunakan adalah isolasi jamur endofit, pemurnian jamur endofit, karakteristik jamur endofit, serta uji aktivitas antibakteri jamur endofit. Hasil penelitian diperoleh sebanyak 5 isolat jamur endofit dan masing-masing isolat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Escheria Coli* dan *Stapyhloccocus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* yang paling besar yaitu isolat JSM 4 dengan diameter zona hambat 18,9 mm dan yang paling kecil yaitu isolat JSM 2 dengan diameter zona hambat 10,8, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling besar isolat JSM 5 dengan diameter zona hambat 24,9 mm dan yang paling kecil yaitu isolat JSM 2 dengan diameter zona hambat 10,8 mm.

Kata Kunci: Anti Bakteri, Daun Sirih Merah, E. coli, Jamur Endofit, S. aureus

ABSTRACT

Red Betel Leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) is a plant that is often used by the community because it can treat various diseases, including as an anticancer, treating digestive disorders, antioxidants and has the potential as an antibacterial. Red betel leaves have the potential as an antibacterial because of the content of active secondary metabolite compounds. The use of endophytic fungi is one way to prevent scarcity. Endophytic fungi are able to produce secondary metabolite compounds that are the same as their host plants. This study aims to isolate endophytic fungi in red betel leaves and determine the potential produced by endophytic fungi as antibacterials. The methods used are isolation of endophytic fungi, purification of endophytic fungi, characteristics of endophytic fungi, and testing the antibacterial activity of endophytic fungi. The results of the study obtained 5 isolates of endophytic fungi and each isolate has the ability to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria marked by the formation of an inhibition zone. The largest diameter of the inhibition zone formed in *Escherichia coli* bacteria was isolate JSM 4 with an inhibition zone diameter of 18.9 mm and the smallest was isolate JSM 2 with an inhibition zone diameter of 10.8, while in *Staphylococcus aureus* bacteria the largest was isolate JSM 5 with an inhibition zone diameter of 24.9 mm and the smallest was isolate JSM 2 with an inhibition zone diameter of 10.8 mm.

Keywords: Antibacterial, Red Betel Leaf, *E. coli*, Endophytic Fungus, *S. aureus*.

PENDAHULUAN

Tanaman obat merupakan salah satu komoditas penting dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai bahan baku obat ialah metabolit sekunder. Tanaman menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka ragam serta berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Faradiba *et al.*, 2024). Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) adalah salah satu tanaman obat yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional, terutama di Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara lainnya (Nugroho & Hartini, 2021). Keberadaan daun sirih merah yang mudah ditemukan dan penggunaannya yang luas dalam pengobatan tradisional menambah nilai penting untuk diteliti (Yennie *et al.*, 2022).

Pemanfaatan sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai bahan antibakteri alami mempunyai keuntungan karena kemungkinan senyawa tersebut lebih aman dibandingkan dengan penggunaan bahan sintetik. Namun, sebagai antibakteri penggunaan sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) masih jarang digunakan, hal ini dikarenakan sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) belum lama dikenal. Dalam pengambilan senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Untuk mengefisiensikan cara memperoleh bioaktif tersebut, maka digunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengestrak dari tanamannya (Simarmata *et al.* 2007).

Jamur endofit khususnya, telah menjadi fokus penelitian yang signifikan karena

kemampuannya dalam menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi digunakan dalam berbagai bidang seperti pertanian, industri, dan medis. Potensi jamur endofit dalam menghasilkan senyawa antimikroba menjadi sangat penting dalam konteks resistensi antibiotik yang semakin meningkat di seluruh dunia. Resistensi antibiotik merupakan masalah serius yang mengancam efektivitas pengobatan terhadap infeksi bakteri, sehingga diperlukan pencarian sumber antibiotik baru yang lebih efektif dan aman (Saragih *et al.*, 2023). Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan kandungan yang terdapat pada tumbuhan tersebut, tumbuhan ini dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri atau mikroba penyebab infeksi. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin melakukan penelitian Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan Potensi Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi jamur endofit pada daun sirih merah dan mengetahui potensi yang dihasilkan jamur endofit sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

Isolasi Jamur Endofit

Teknik isolasi fungi endofit ini dilakukan dengan metode tanam langsung. Proses pengerjaan isolasi dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Daun sirih merah dicuci dengan air mengalir terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan sampel dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam NaOCl 1% selama 3 menit dan direndam kembali dalam alkohol 70% selama 30 detik. Masing-masing potongan diletakkan pada permukaan medium PDA yang telah memadat dengan posisi bagian daun yang telah digerus menempel pada medium. Diinkubasi pada incubator hingga tampak koloni pertumbuhan fungi endofit (Hakim & Kasiamdari, 2023).

Pemurnian Jamur Endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian jamur endofit yaitu medium PDA. Jamur endofit yang tumbuh pada medium PDA, dimurnikan masing-masing pada medium plat dan media miring PDA. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 25 °C, setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDA. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur lagi pada medium PDA baru.

Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 25 °C tadi diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara melihat langsung bentuk dan warna koloni jamur endofit. Sedangkan pengamatan ciri-

ciri mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler. Pengamatan secara makroskopis dilakukan setiap hari sampai tampak adanya konidia.

Uji Antibakteri terhadap *Esherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri isolat bakteri yaitu medium MHA. Uji aktivitas antibakteri isolat jamur terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,22 um, dengan cara, mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah di sterilkan direndam didalam kultur jamur endofit selama 30 menit. Kertas cakram diambil dengan cara menggunakan pinset steril dan diletakkan diatas medium uji aktivitas antibakteri (medium plat MHA). kemudian di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 derajat celsius. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur Endofit Daun Sirih Merah

Hasil pengamatan isolasi jamur endofit pada media PDA dari daun Sirih Merah, menunjukkan adanya pertumbuhan jamur endofit pada masing-masing cawan petri. Setiap jamur endofit yang tumbuh menunjukkan morfologi yang berbeda dikultur kembali pada media PDA yang baru. Isolasi jamur endofit dari daun sirih merah yang diperoleh dimurnikan kembali dan diinkubasi selama 5 hingga 14 hari pada suhu ruang untuk diperoleh isolat murninya berdasarkan karakteristik morfologi yang berbeda. Pernyataan ini sesuai dengan pernyataan Worang (2003) bahwa jamur endofit dapat ditemukan di dalam jaringan tanaman seperti daun, bunga, umbi, ranting, batang, dan akar tanaman.

Hasil pemurnian didapatkan sebanyak 5 isolat jamur yang diberi kode isolat JSM (Gambar 1. dan Tabel 1.). Isolat jamur memiliki warna spora, bentuk koloni, permukaan atau tekstur, dan kecepatan pertumbuhan yang berbeda. Isolat jamur yang diperoleh sekitar 5 isolat dari daun sirih merah. Keseluruhan permukaan koloni atau tekstur jamur endofit secara makroskopis di dominasi kapas halus.



Gambar 1. Isolat Jamur yang Diperoleh dari Hasil Penelitian

No.	Kode Isolat			Makrokopis			Mikrokopis				Jenis Jamur
		Permukaan Koloni	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Warna Sebalik	Kecepatan Pertumbuhan*	Bentuk konidia	Konidiofor bercabang/tidak	Bentuk hifa	Hifa berseptat/tidak	
1.	JSM 1	Kapas Halus	Filamentous	Hijau	Hijau	Cepat	Bulat	Bercabang	Silindris	Bersepta	<i>Tricoderma sp</i>
2.	JSM 2	Kapas Halus	Granular	Hijau	Hijau	Sedang	Bulat	Bercabang	Spiral	Bersepta	<i>Penicillium sp</i>
3.	JSM 3	Kapas Halus	Irregular	Putih	Putih	Sedang	Bulat	Tidak	Silindris	Tidak	<i>Rhizopus sp</i>
4.	JSM 4	Kapas Halus	Irregular	Abu-abu Pinggiran Putih (Masih Mudah)	Hijau	Lambat	Semi bulat	Bercabang	Spiral	Bersepta	<i>Aspergillus sp</i>
5.	JSM 5	Kapas Halus	Filamentous	Merah muda	Merah muda	Sedang	Bulat	Tidak	Spiral	Bersepta	<i>Fusarium sp</i>

Tabel 1. Beberapa Isolat Jamur yang Diperoleh dari Hasil Penelitian

Isolat jamur endofit yang didapat kemudian dikarakterisasi morfologinya berdasarkan morfologi makroskopik dan mikroskopik untuk diketahui jenis dari jamur endofit tersebut. Berdasarkan ciri makroskopik dan mikroskopik pada Isolat JSM 1 dan setelah dibandingkan dengan buku identifikasi dari Barnett (1976), maka dapat diketahui bahwa isolat JSM 1 diduga termasuk dari genus *Trichoderma sp.* Secara mikroskopis isolat jamur *Trichoderma sp.* memiliki hifa bersepta, konidiofor banyak dan bercabang, hialin, bentuk konidia semi bulat dan bergerombol diantara hifa.

Isolat JSM 2 setelah dibandingkan dengan buku identifikasi dari Barnett (1976), maka dapat diketahui bahwa isolat JSM 2 diduga termasuk dari genus *Penisillium sp.* Karakteristik dari genus *Penisillium sp.* yaitu mempunyai hifa yang bersekat, koloni berwarna hijau dengan tekstur permukaan granular, konidiofor memanjang, konidia berbentuk bulat tersusun seperti rantai-rantai membentuk askospora.

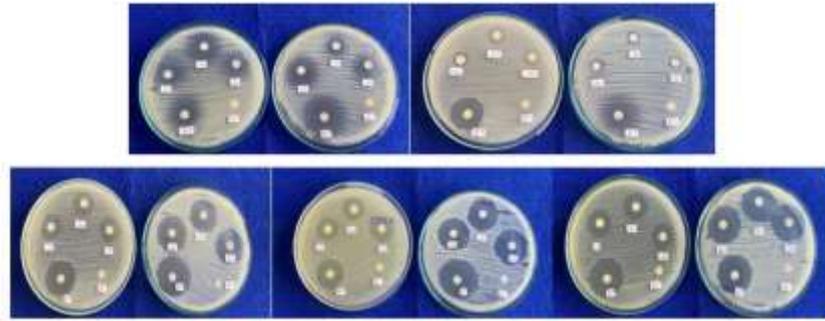
Isolat JSM 3 setelah dibandingkan dengan buku identifikasi dari Barnett (1976), maka dapat diketahui bahwa isolat JSM 3 diduga termasuk dari *Rhizopus sp.* karakteristik *Rhizopus sp* yaitu mempunyai hifa yang bersekat membentuk rhizoid yang menempel pada substrat, reproduksinya secara aseksual membentuk sporangium berbentuk bulat (Hidayatullah, 2018).

Isolat JSM 4 setelah dibandingkan dengan buku identifikasi dari Barnett (1976), maka dapat diketahui bahwa isolat JSM 4 diduga termasuk *Aspergillus sp.* Karakteristik *Aspergillus sp* memiliki hifa bersepta, koloni berwarna hitam dan hijau konidiofor yang tegak dan miselium bercabang.

Isolat JSM 5 setelah dibandingkan dengan buku identifikasi dari Barnett (1976), maka dapat diketahui bahwa isolat JSM 5 di duga termasuk dari *Fusarium sp.* karakteristik *Fusarium sp* yaitu mempunyai hifa yang tidak bersekat dan konidiofor yang monifialid yang pendek (Sutejo dkk 2008).

Uji Aktivitas Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*)

Uji aktivitas antimiroba dilakukan untuk mengetahui kemampuan yang dihasilkan jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji (Gambar 2. dan Tabel 2.). Media MHA digunakan untuk uji aktivitas jamur dan bakteri. Pengujian ini menggunakan bakteri yang berumur 24 jam karena bakteri masih dalam keadaan aktif dan pertumbuhannya masih dalam kondisi optimal. Pengujian sebagai kontrol positif menggunakan kloramfenikol yang ditetesi pada cakram kosong sebanyak 10 µl.



Gambar 2. Beberapa Isolat Jamur yang Diperoleh dari Hasil Penelitian

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Daun sirih Merah

Kode Isolat	<i>Esherichia coli</i>							<i>Staphylococcus aureus</i>						
	K+	K	U1	U2	U3	Rata-rata	Kriteria	K+	K	U1	U2	U3	Rata-rata	Kriteria
JSM 1	22,4	0	16,1	16,4	15,7	16	Kuat	28,1	0	17,9	15,3	15,6	16,2	Kuat
JSM 2	21,9	0	11,2	10,9	10,8	10,9	Sedang	22,1	0	10,1	11,3	11,2	10,8	Sedang
JSM 3	24,6	0	19,1	18,9	19	19	Kuat	26,6	0	24,6	23,5	24,5	24,2	Sangat Kuat
JSM 4	22,6	0	18,8	19	19,1	18,9	Kuat	28,4	0	23,9	24,1	24,3	24,1	Sangat Kuat
JSM 5	26,4	0	18,5	18,8	18,7	18,6	kuat	26,6	0	24,8	25	25	24,9	Sangat kuat

Data hasil pengamatan pada Tabel 1.2. menunjukkan rata-rata bahwa *Staphylococcus aureus* menghasilkan diameter zona hambat lebih besar dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) merupakan yang tertinggi, sedangkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) cenderung lebih rendah.

Semua kontrol positif menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini terbukti bahwa kloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang berspektrum luas yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan gram positif maupun negatif Pangestika (2017). Kontrol positif pada isolat JSM 1 menunjukkan zona hambat sebesar 16 mm untuk *Escherichia coli* dan 16,2 mm untuk *Staphylococcus aureus*, isolat JSM 2 menunjukkan 10,9 mm untuk *Escherichia coli* dan 10,8 mm untuk *Staphylococcus aureus*, isolat JSM 3 menunjukkan zona hambat sebesar 19 mm untuk *Escherichia coli* dan 24,2 mm untuk *Staphylococcus aureus*, isolat JSM 4 menunjukkan zona hambat sebesar 18,9 mm untuk *Escherichia coli* dan 24,1 mm untuk *Staphylococcus aureus*, isolat JSM 5 menunjukkan zona hambat sebesar 18,6 mm untuk *Escherichia coli* dan 24,9 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat, karena akuades adalah senyawa netral yang tidak memberikan efek terhadap pertumbuhan bakteri (Henaulu dan Kaihena, 2020).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil beberapa simpulan, antara lain:

1. Adanya jamur endofit yang diisolasi dari daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dan diperoleh sebanyak 5 isolat jamur endofit yaitu: *Tricoderma sp*, *Penisilium sp*, *Rhizopus sp*, *Aspergillus sp*, dan *Fusarium sp*.
2. Jamur endofit yang diisolasi dari daun sirih merah memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat.
3. Isolat dengan kemampuan daya hambat yang paling besar pada bakteri *Escherichia coli* yang paling besar yaitu isolat *Aspergillus sp* dengan diameter zona hambat 18,9 mm dan yang paling kecil yaitu isolat *Penisilium sp* dengan diameter zona hambat 10,8, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling besar isolat

Fusarium sp dengan diameter zona hambat 24,9 mm dan yang paling kecil yaitu isolat *Penisilium sp* dengan diameter zona hambat 10,8 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett, H.L., Hunter, Barry, B. (1976). *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi Fourth Edition*. USA: The American Phytopathological Society.
- Faradiba, F., Syarif, R., Khaira, A., & Alyanti, T. (2024). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Jahe dan Serai terhadap Aktivitas Antiinflamasi pada Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 11(1), 33-40.
- Hakim, D., & Kasiamdari, R. (2023). Identifikasi dan Seleksi Fungi Endofit Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Penghasil Enzim Selulase. *Berkala Ilmiah Biologi*, 14(3), 23-31.
- Hidayat, F., Rahutomo, S., Farrasati, R., Pradiko, I., Syarovy, M., Sutarta, E., & Sutarta, E. (2018). *Pemanfaatan bakteri endofit untuk meningkatkan keragaan bibit kelapa sawit (Elaeis guineensis Jacq.)* (Vol. 26(200)). Pekalongan: Penerbit NEM.
- Nugroho, L., & Hartini, Y. (2021). *Farmakognosi Tumbuhan Obat: Kajian Spesifik Genus Piper*. Yogyakarta: UGM PRESS.
- Pangestika, N.W. 2017. Hubungan Antara Tingkat Pendidikan dan Pengetahuan Terhadap Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Pada Kader PKK di 17 Kecamatan Wilayah Kabupaten Banyumas. Thesis. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah.
- Saragih, G., Hidayani, T., Mirnandaulia, M., Ginting, C., & Fachrial, E. (2023). Mikroba Endofit Dalam Dunia Kesehatan: Manfaat dan Aplikasi. *Publish Buku UNPRI Press ISBN*, 1(1), 1-83.
- Henaulu, A.H dan M.Kaihena. 2020. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* In Vitro. OJS UNPATTI Publication Center Universitas Pattimura Hal: 44-54.
- Yennie, Y., Dewanti-Hariyadi, R., Kusumaningrum, H., & Poernomo, A. (2022). Kontaminasi *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* pada Sushi di Tingkat Ritel di Wilayah Jabodetabek. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 331-344.