

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT
SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI DARI DAUN BELIMBING
MANIS (*Averrhoa carambola* L.)**



Oleh :

DWI SRI ANDAYANI

2019E1C014

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
Pada Program Studi S1 FARMASI Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Mataram

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
TAHUN 2023**

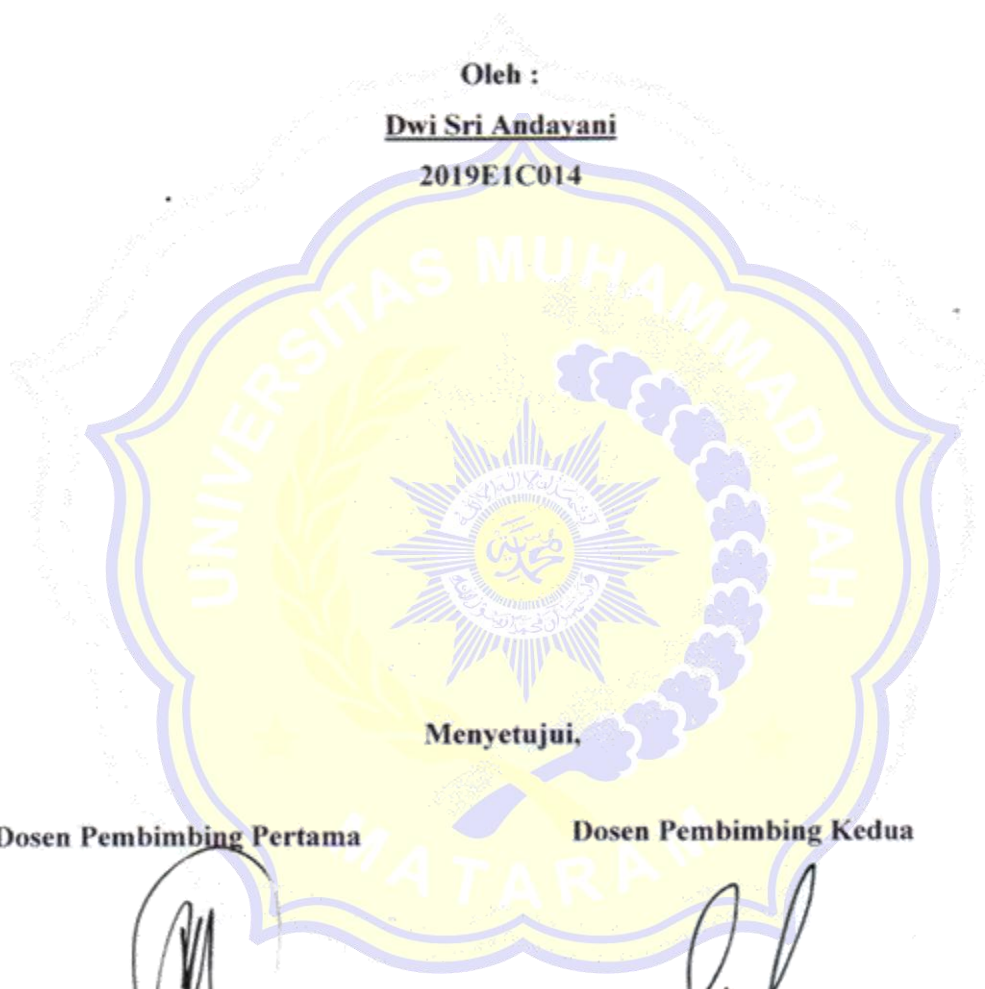
**LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING
PROPOSAL SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT
SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI TANAMAN BELIMBING
(*Averrhoa carambola* L)**

Oleh :

Dwi Sri Andayani

2019E1C014



Menyetujui,

Dosen Pembimbing Pertama

Dosen Pembimbing Kedua

(apt. Safwan, M.Sc., Ph.D)

NIDN. 0825078802

(apt. Abdul Rahman Wahid, M. Farm.)

NIDN. 0817038601

SKRIPSI INI TELAH DISEMINARKAN DAN DIUJI OLEH TIM
PENGUJI PADA JUM'AT, 23 JUNI 2023
OLEH
DEWAN PENGUJI

Ketua

apt. Safwan, M.Sc., Ph.D.

NIDN. 0825078802

Anggota I

Irmatika Hendriyani M. Sc.

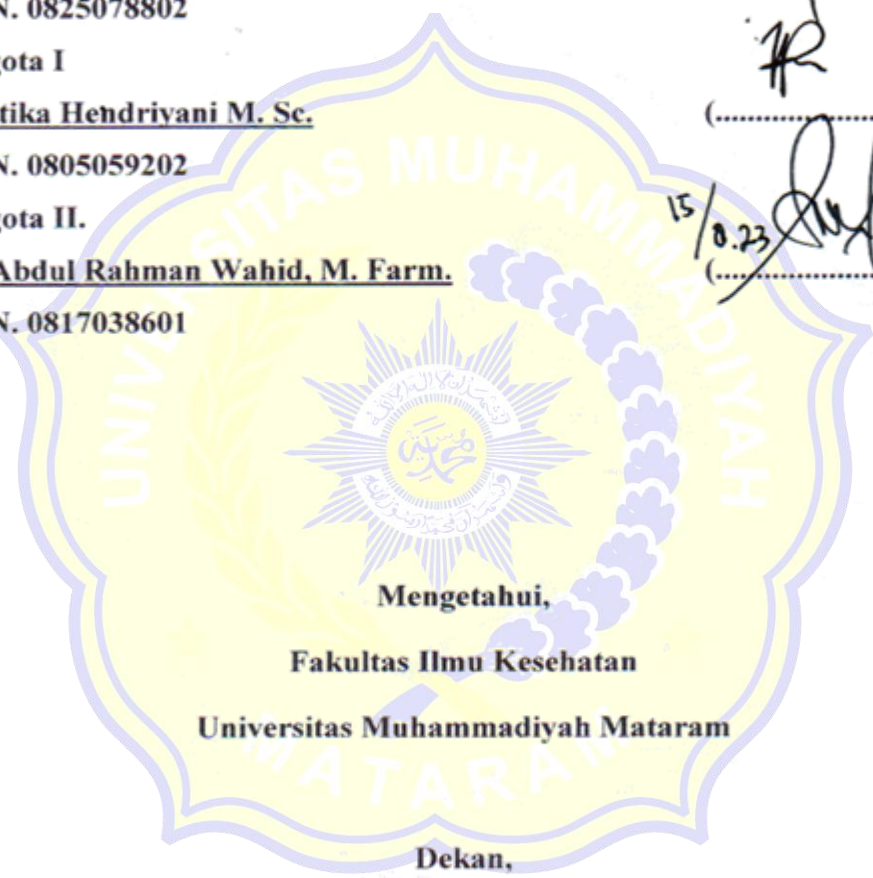
NIDN. 0805059202

Anggota II.

apt. Abdul Rahman Wahid, M. Farm.

NIDN. 0817038601

(.....)
15/0.23
(.....)



Mengetahui,

Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Mataram

Dekan,

(.....)
Apt. Nurul Qiyaam, M. Farm, Klin.
NIDN. 0827108402

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dwi Sri Andayani
Tempat, tanggal lahir : Masbagik, 01-02-2001
NIM : 2019E1C001
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Fakultas Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Dari Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)

Dengan ini saya menyatakan yang sebenarnya:

1. Bahwa naskah skripsi ini benar-benar orisinal dan baru, dibuat oleh saya sendiri;
2. Bahwa saya tidak menjiplak karya ilmiah milik orang lain;
3. Bahwa naskah ini sepengetahuan saya belum ada yang membuat atau telah dipublikasikan atau pernah ditulis dan/atau diterbitkan oleh orang lain;
4. Bahwa setiap pendapat orang lain yang saya kutip, selalu saya cantumkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila pernyataan saya tidak benar dan dikemudian hari ternyata ada pihak lain yang mengklaim sebagai tulisannya yang saya jiplak, maka saya akan mempertanggungjawabkan sendiri tanpa melibatkan dosen pembimbing dan/atau Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan saya bersedia menerima sanksi akademis berupa dicabutnya predikat kelulusan/gelar kesarjanaannya.

Mataram, 07 Agustus 2023
Yang membuat pernyataan,



Dwi Sri Andayani
NIM. 2019E1C014



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : DWI SRI ANDAYANI
NIM : 2019E1C014
Tempat/Tgl Lahir : MASBAGIK / 1 FEBRUARI 2001
Program Studi : SI FARMASI
Fakultas : ILMU KESEHATAN
No. Hp : 087860334725
Email : dwisriandayani36@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT SEKUNDEK HASIL
FERMENTASI FUNGI DARI DAUN BELUMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 42 %

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milih orang lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikain surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mataram, 7 Agustus 2023
Penulis



DWI SRI ANDAYANI
NIM. 2019E1C014

Mengetahui,
Kepala NPT. Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos.,M.A. uhy
NIDN. 0802048904

*pilih salah satu yang sesuai



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : DWI SRI ANDAYANI
NIM : 2019E1C014
Tempat/Tgl Lahir : MASBAGIK, 1 FEBRUARI 2001
Program Studi : S1 FARMASI
Fakultas : ILMU KESEHATAN
No. Hp/Email : 087 860 334 725
Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT SEKUNDER HASIL
FERMENTASI FUNGI DARI DAUN KELIMBING MAMIS (*Averrhoa curambola* L)

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 7 Agustus 2023
Penulis



DWI SRI ANDAYANI
NIM. 2019E1C014

Mengetahui,
Kepala UPT, Perpustakaan UMMAT



My Iskandar, S.Sos., M.A. edy
NIDN. 0802048904

MOTTO

HIDUPLAH SEPERTI LARRY



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga dapat menyusun dan dapat menyelesaikan skripsi tepat pada waktunya. Shalawat serta salam juga tak lupa kita haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya. skripsi dengan judul “Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)” sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memenuhi persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Skripsi ini dapat terselesaikan tentunya tidak terlepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak. Peneliti menyadari kekurangan banyaknya kendala yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat do'a serta motivasi dan kontribusi dari berbagai pihak kendala tersebut mampu teratasi dan terkendali dengan baik. Peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Apt. Nurul Qiyaam, M.Farm. Klin selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Cahaya Indah Lestari, M. Keb. selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram, serta selaku Pembimbing II

yang dengan sabar mengarahkan serta membantu peneliti dalam penelitian dan penyusunan Skripsi ini.

4. apt. Baiq Leny Nopitasari, M. Farm selaku Ketua Prodi S1 farmasi fakultas ilmu kesehatan universitas muhammadiyah mataram.
5. apt. Safwan, M. Sc., Ph. D. selaku pembimbing I skripsi saya dengan sabar membimbing, memberi arahan, dan segala jenis bantuan kepada peneliti selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
6. Orang tua dan saudara-saudara saya atas segala doa, sarana, dukungan dan kepercayaan yang telah diberikan kepada saya sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Saudara-saudari S1 Farmasi yang telah memberikan banyak dukungan dan bantuan dalam Skripsi ini.

Dengan segala kerendahan hati, peneliti menyadari penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik sangat dibutuhkan guna menyempurnakan skripsi ini. Bersamaan dengan ini disampaikan mohon maaf yang sebesar-besarnya atas kekurangan yang ada pada skripsi ini.

Mataram, Juni 2023

Dwi Sri Andayani
2019E1C014

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
FAKULTAS ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI S1 FARMASI
TAHUN 2023

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT
SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI DARI DAUN BELIMBING
MANIS (*Averrhoa carambola* L.)

Dwi Sri Andayani, 2023

Pembimbing : (1) Safwan, (2) Abdul Rahman Wahid, (3) Irmatika Hendriyani

ABSTRAK

Belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) adalah tumbuhan yang berasal dari wilayah tropis yang termasuk kedalam famili *Oxalidaceae*. Metabolit sekunder hasil dari fermentasi fungi endofit merupakan sumber senyawa bioaktif sebagai sumber penemuan obat baru. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan aktivitas antibakteri dan antijamur dari hasil fermentasi fungi endofit dari tanaman belimbing manis. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental design* secara *in vitro* untuk mencari data sebenarnya yang didapat dari hasil fermentasi fungi endofit sampel daun belimbing manis dengan cara penanaman media dengan kertas cakram atau metode difusi pada bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan salah satu jamur patogen yaitu *Candida albicans*. Hasil penelitian ini dari penanaman sampel diperoleh 5 isolat fungi endofit. Selanjutnya dilakukan purifikasi fungi endofit dari penanaman sampel daun belimbing manis didapatkan 8 isolat yang ditandai dengan terdapatnya 1 fungi yang tumbuh pada 1 cawan. Kemudian terdapatnya 5 sampel hasil fermentasi yang berhasil yaitu sampel B2, B3, B5, B7 dan B8 ditandai dengan tumbuhnya fungi pada proses fermentasi selama 30 hari. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan etil asetat pada 5 sampel dari hasil fermentasi fungi endofit daun belimbing manis. Tahapan terakhir yaitu uji KLT dengan uji aktivitas antibakteri dan anti jamur. Pada uji KLT terdapat metabolit sekunder yaitu senyawa fenol pada sampel B5 dan B8 ditandai dengan adanya bercak yang berwarna biru kehitaman sedangkan uji aktivitas antibakteri dan antijamur yaitu pada *S. aureus*, *E. coli* dan *Candida albicans* diperoleh sampel B5 dan B7 memiliki aktivitas pada bakteri *E. coli* ditandai adanya zona hambat. Kesimpulan pada penelitian ini terdapat zona hambat hanya pada bakteri *E. coli* yang memiliki aktivitas antibakteri pada sampel B5 dengan kategori (lemah) dan B7 dengan kategori (Kuat).

Kata kunci: *fungi endofit, belimbing manis, metabolit sekunder*

ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF SECONDARY
METABOLITES FROM FUNGAL FERMENTATION OF SWEET STARFRUIT
LEAVES (*AVERRHOA CARAMBOLA* L.)

Dwi Sri Andayani, 2023

Supervisors: (1) Safwan, (2) Abdul Rahman Wahid, (3) Irmatika Hendriyani

Abstract

Sweet starfruit (*Averrhoa carambola* L.) is a plant native to tropical regions and belongs to the Oxalidaceae family. Secondary metabolites resulting from the fermentation of endophytic fungi are sources of bioactive compounds for discovering new drugs. This research aims to discover the antibacterial and antifungal activities of endophytic fungi fermentation results from sweet starfruit plants. The method used in this study is a true experimental design *in vitro* to find actual data obtained from the fermentation results of endophytic fungi samples from sweet starfruit leaves by planting media with paper discs or the diffusion method on bacteria *S. aureus*, *E. coli*, and one of the pathogenic fungi, *Candida albicans*. The results of this study obtained five endophytic fungi isolates in the sample planting. Next, purification was carried out by planting sweet starfruit leaf samples, resulting in 8 isolates marked by the growth of 1 fungus in 1 petri dish. Then, successful fermentation results were obtained from 5 samples, consisting of B2, B3, B5, B7, and B8, marked by the growth of fungi during the 30-day fermentation process. The next step was extraction using ethyl acetate on five samples, namely the fermentation results of endophytic fungi from sweet starfruit leaves. The final step was the TLC test with antibacterial and antifungal activity tests. In the TLC test, secondary metabolites, phenolic compounds, were found in samples B5 and B8, indicated by dark blue spots. Antibacterial and antifungal activity tests were conducted on *S. aureus*, *E. coli*, and *Candida albicans*. Samples B5 and B7 exhibited activity against *E. coli*, marked by inhibition zones. In conclusion, this study found inhibition zones only against *E. coli* bacteria, which exhibited antibacterial activity in sample B5 with a (weak) category and B7 with a (strong) category.

Keywords: Endophytic fungi, sweet starfruit, secondary metabolites

MENGESAHKAN
SALINAN FOTO COPY SESUAI ASLINYA
MATARAM

KEPALA
UPT P3B

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM



H. Naira, M.Pd
NIDN. 0803048601

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	v
SURAT PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
MOTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (<i>Scientific</i>)	4
1.4.2 Bagi Pengguna (<i>Consumer</i>).....	4
1.5 Landasan Teori	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Teori	6
2.1.1 Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L).....	6
2.1.2 Fungi Endofit	7
2.1.3 Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Endofit	8
2.1.4 Aktivitas Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Endofit	8
2.1.5 Ekstraksi	9
2.1.6 Fermentasi Fungi Endofit	9
2.1.7 Antibakteri dan Antijamur	10
2.1.8 Kromatografi Lapis Tipis	10

2.1.9 Pengujian Menggunakan Bakteri dan Jamur	11
2.2 Keaslian Penelitian	14
2.3 Kerangka Teori	16
2.4 Kerangka Konsep.....	17
2.5 Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Desain Penelitian	19
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.3 Variabel Penelitian.....	19
3.3.1. Variabel Utama	19
3.4 Definisi Operasional	20
3.5 Populasi dan Sampel.....	21
3.5.1 Populasi.....	21
3.5.2 Sampel	21
3.6 Alat dan Metode Pengumpulan Data	21
3.6.1 Alat dan Bahan	21
3.6.2 Metode Pengumpulan Data.....	22
3.7 Metode Pengelolaan dan Analisis Data	26
3.7.1 Metode Pengolahan Data	26
3.7.2 Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil.....	29
4.1.1 Penanaman Sampel	29
4.1.2 Karakteristik Isolasi Fungi Endofit.....	30
4.1.3 Fermentasi.....	33
4.1.1 Ekstraksi	34
4.1.2 Kromatografi Lapis Tipis	35
4.1.1 Uji Aktivitas Antibakteri dan Antijamur	37
4.2 Pembahasan	41
4.3 Keterbatasan Penelitian	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	48

DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	53



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Keaslian Penelitian	155
Tabel 4. 1 Purifikasi Fungi Endofit	30
Tabel 4. 2 Nilai Rf	36
Tabel 4. 3 Diameter Zona Hambat Pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Tabel 4. 4 Diameter Zona Hambat Pada Bakteri <i>Escherichia coli</i>	39
Tabel 4. 5 Diameter Zona Hambat Pada Jamur <i>Candida albicans</i>	40

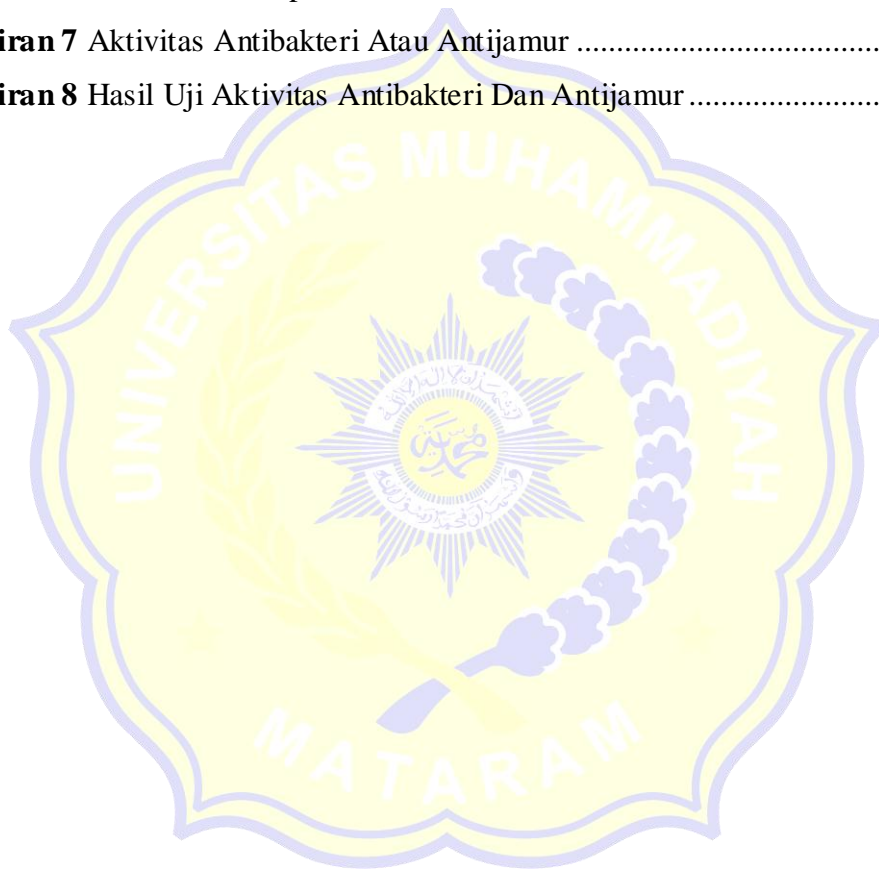


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	7
Gambar 2. 2 Kerangka Teori Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi dari Tanaman Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	16
Gambar 2. 3 Kerangka Konsep Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi dari Tanaman Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	1717
Gambar 3. 1 Rumus diameter zona hambat.....	2727
Gambar 3. 2 Alur Penelitian	2828
Gambar 4. 1 Hasil Penanaman Fungi Endofit Pada Hari ke -3 dari Sampel Daun Belimbing Manis Dengan 5 Cawan	2929
Gambar 4. 2 Hasil Penanaman Fungi Endofit Pada Hari ke -7 dari Sampel Daun Belimbing Manis Dengan 5 Cawan	3030
Gambar 4. 3 Fermentasi.....	3434
Gambar 4. 4 Ekstraksi Menggunakan Etil Asetat.....	3434
Gambar 4. 5 Ekstrak Murni Dengan Metanol	3535
Gambar 4. 6 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (a) sinar UV 254 nm (b) 366 nm (c) Setelah Penyemprotan 10% H ₂ SO ₄	3535
Gambar 4. 7 Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dengan Penyemprotan FeCl ₃ ..	3636
Gambar 4. 8 Grafik KLT Hasil Fermentasi Fungi Endofit Daun Belimbing Manis	3737
Gambar 4. 9 Uji Aktivitas Pada Bakteri <i>Stophylococcus aureus</i>	3838
Gambar 4. 10 Uji Aktivitas Pada Bakteri <i>Escherichia coli</i>	3939
Gambar 4. 11 Uji Aktivitas Pada Jamur <i>Candida albicans</i>	4040

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Sterilisasi Permukaan.....	5353
Lampiran 2 Purifikasi Fungi Endofit.....	5454
Lampiran 3 Fermentasi Fungi Endofit	5555
Lampiran 4 Bobot Ekstrak Murni.....	5656
Lampiran 5 Kromatografi Lapis Tipis.....	5757
Lampiran 6 Data Jarak Tempuh Noda.....	5858
Lampiran 7 Aktivitas Antibakteri Atau Antijamur	599
Lampiran 8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur	6060



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman belimbing sebenarnya berasal dari daerah Asia Tenggara terutama Malaya. Meskipun demikian, belimbing telah berkembang dengan baik di Indonesia sejak zaman babad Jawa. Pada tahun 1999-2002 luas lahan untuk tanaman belimbing di Indonesia rata-rata adalah 2.516,2 ha dengan produksi 51.370 ton (Sunarjono, 2004). Salah satu jenis tanaman belimbing yang sering dijumpai adalah tanaman belimbing manis. Mitcham dan MacDonald (1990) mengemukakan Belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) adalah tumbuhan tropis yang termasuk kedalam keluarga *Oxalidaceae*. Belimbing manis berasal dari Asia Tenggara dan mampu menghasilkan buah hampir sepanjang tahun (Hidayat & Napitupulu, 2015).

Dalam penelitian sebelumnya menggunakan skrining fitokimia untuk menentukan metabolit sekunder terdapat pada belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) memiliki kandungan aktif alkaloid, flavonoid, tanin dan fenol (Abtian *et al.*, 2019). Menurut Das Gupta, Charaborty, Bala (2013) *Averrhoa carambola* L. pada umumnya digunakan sebagai obat herbal tradisional untuk pengobatan beberapa penyakit sedangkan aktivitas farmakologi dari berbagai tanaman seperti buah, daun, dan batang telah teridentifikasi bahwa memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, dan aktivitas biologis.

Memanfaatkan senyawa metabolit yg diperoleh dari mikroba (fungi atau bakteri) dalam tanaman (Indrawati *et al.*, 2019). Fungi endofit pada tanaman

yang berada di daerah tropis mampu meningkatkan daya tahan bagi tanaman inang. Fungi endofit akan menghambat laju pertumbuhan dan mengambil nutrisi terhadap patogen dengan cara menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu membunuh patogen tersebut (Sopialena *et al.*, 2019).

Fungi endofit merupakan sumber senyawa bioaktif. Fungi endofit dapat hidup di jaringan tanaman dan merupakan sebagai sumber penemuan obat baru. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa yang mirip atau identik dengan yang dihasilkan oleh inangnya karena terjadi rekombinasi genetik antara endofit dan inang (Angelin *et al.*, 2022).

Untuk memperbanyak metabolit sekunder fungi endofit dari tanaman belimbing manis dengan cara melakukan fermentasi menggunakan pelarut organik yang sering digunakan sebagai pelarut untuk proses ekstraksi seperti benzena, toluena, petroleum eter, metilenklorida, kloroform, karbon tetraklorida, etil asetat dan dietil eter (Kiswandono, 2007).

Menurut Haq, *et.al* (2014) Senyawa metabolit sekunder diidentifikasi dari tanaman tropis memiliki senyawa bioaktif (Aulia & Sulistyaningsih, 2020). Beberapa jenis fungi endofit diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibakteri, antimalaria, antikanker, tuberculosis (TBC) dan antifungi (Lenny Anwar & Futra, 2019).

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin melakukan uji KLT untuk mengidentifikasi profil metabolit sekunder yang sama. selanjutnya dilakukannya uji aktivitas antibakteri dan antijamur yang akan diuji zona hambatnya pada daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L) (Kjer *et al.*,

2010). Bakteri gram negatif yang digunakan adalah *Escheriha coli*, bakteri gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan salah satu golongan jamur yang digunakan yaitu *Candida albicans*

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Apakah terdapat fungi endofit pada daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) ?
2. Apakah fungi endofit daun belimbing manis memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan terhadap uji aktivitas antibakteri dan antijamur?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk meneliti aktivitas antibakteri dan antijamur dari ekstrak fungi endofit daun belimbing manis.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui terdapatnya fungi endofit pada daun belimbing manis
2. Mengetahui fungi endofit daun belimbing manis memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan terhadap uji aktivitas antibakteri dan antijamur

1.4 Manfaat

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (*Scientific*)

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat bagi bidang ilmu kefarmasian, ilmu mikrobiologi dan tridarma perguruan tinggi dengan adanya informasi mengenai fungi endofit daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L) sebagai aktivitas antibakter dan antijamur.

1.4.2 Bagi Pengguna (*Consumer*)

Penelitian ini diharapkan dapat memberi sumber informasi mengenai pemanfaatan aktivitas fungi endofit hasil fermentasi daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L) terhadap antibakteri dan antijamur sebagai penemuan obat baru.

1.5 Landasan Teori

1. Penelitian Kursia *et al.*, 2018 dengan judul “Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.)” metode ini bersifat eksperimental laboratorium mengukur laju pertumbuhan diameter zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan adanya diameter zona hambat tertinggi dari bakteri seperti bakteri *Staphylococcus aerus* dan *Escherichia coli*.
2. Penelitian Kjer *et al.*, 2010 dengan judul “*Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products*” metode digunakan adalah eksperimental *laboratorium*. Penggunaan metode yang sama tetapi memiliki perbedaan antara sampel yaitu penggunaan tanaman darat dengan menggunakan media PDA.

3. (Anindyawati & Dody, 2017) dengan judul “Isolasi, Uji Aktifitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Aktif Kapang Endofit dari Tanaman Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)” Penelitian sebelumnya menggunakan batang tanaman sedangkan pada penelitian ini menggunakan daun dari tanaman belimbing manis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Teori

2.1.1 Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L).

Tanaman belimbing bukan merupakan tanaman asli indonesia. Tanaman belimbing sudah sangat lama dikenal dan tumbuh di indonesia sehingga dianggap sebagai tanaman asli indonesia. Setelah berkembang di indonesia, tanaman belimbing menyebar ke filipina dan negara lain di sekitar asia tenggara yang kemudian menyebar ke seluruh dunia (Sunarjono, 2004)

Pohon belimbing berkayu keras, tinggi pohon dapat mencapai 12 m dengan penampilan yang ramping dan tidak terlalu besar. Tanaman ini bercabang banyak dan cenderung tumbuh ke samping (horizontal). Daun belimbing termasuk ke dalam daun majemuk menyirip ganjil. Anak daun tersusun berhadapan atau berseling pada tangkai bersama atau tangkai majemuk. Jumlah anak daun dalam satu tangkai bersama tersebut umumnya ganjil atau antara 7-17 helai. Tulang daunnya menyirip, sedangkan bentuk daunnya lonjong sampai panjang dengan pangkal daun melebar dan ujung daun runcing. Daun muda berwarna kemerahan. Buah belimbing berbentuk lonjong dengan bagaian pinggir disebut lingir. Bagian lingir terdapat lekukan ke dalam berjumlah 5 rusuk. Saat muda buah berwarna hijau, tetapi setelah matang warna buah berubah menjadi menyolok, seperti kuning, merah, ataupun

oranye. Rasa buah matang manis, berair, dan agak kesat (Sunarjono, 2004)



Gambar 2. 1 Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)

Sumber : (*Belimbing Manis, Bintangnya Buah Tropis - Greeners.Co*, 2018)

Berikut susunan klasifikasi belimbing manis (Sunarjono, 2004).

- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Oxalidales
- Famili : Oxalidaceae
- Genus : *Averrhoa*
- Spesies : *Averrhoa carambola* L.

2.1.2 Fungi Endofit

Kemampuan fungi endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif merupakan hal yang potensial untuk dikembangkan menjadi senyawa

obat baru. fungi endofit kaya akan sumber senyawa kimia yang beragam dengan aktivitas biologis yang beragam pula. Fungi endofit dapat berkembang biak dengan cepat hanya dalam beberapa bulan sehingga fungi endofit dapat dijadikan sebagai sumber kimia bahan alam yang berkelanjutan (Angelin *et al.*, 2022).

2.1.3 Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Endofit

Salah satu cara untuk mendapatkan metabolit sekunder tanpa mengeksploitasi tumbuhan adalah dengan menggunakan fungi endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman. Fungi endofit adalah organisme yang hidup di dalam organ tanaman dapat membentuk koloni di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerugian pada inangnya (Fridayanti *et al.*, 2015). Aktivitas senyawa aktif yang dihasilkan fungi endofit dapat lebih besar daripada aktivitas senyawa tanaman inang. Fungi endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder yang mirip dengan tanaman inang ke dalam fungi endofit yang memiliki aktivitas biologis yang serupa dengan metabolit sekunder yang diproduksi oleh inangnya (Kuntari *et al.*, 2017). Skrining fitokimia tanaman belimbing manis mengandung metabolit sekunder seperti penggolongan utama dalam metabolit sekunder adalah terpenoid, fenil propanoid, poliketide, dan alkaloid (Saipudin, 2014).

2.1.4 Aktivitas Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Endofit

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang diperoleh dari proses fermentasi fungi endofit (Saipudin, 2014). Fungi endofit menghasilkan

metabolit sekunder seperti enzim-enzim perombak, zat pengatur tumbuh tanaman, zat antifungi, antibakteri, antibiotik (Kumala *et al.*, 2006). antikanker, antidiabetes, antioksidan, antivirus, antiinflamasi, dan immunosupresif (Deshmukh *et al.*, 2018).

2.1.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Menurut Darwis (2000) Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik yang salah satunya seperti etil asetat yang bersifat semipolar sehingga ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang digunakan (Nisa, 2013).

2.1.6 Fermentasi Fungi Endofit

Bagi ahli bioteknologi, fermentasi adalah setiap proses yang dimediasi oleh mikroorganisme yang melibatkan transformasi zat organik. Fermentasi dalam kimia adalah proses dimana tidak terjadi reduksi oksidasi bersih dan elektron dari substrat didistribusikan di antara produk (Glazer & Nikaido, 2007). Fermentasi pada fungi endofit dilakukan dengan bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang

mengandung senyawa metabolit sekunder dari isolat fungi endofit (Sinaga *et al.*, 2009).

2.1.7 Antibakteri dan Antijamur

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen (Paju *et al.*, 2013). Safitri, 2016 mengemukakan bahwa antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Magani *et al.*, 2020).

Menurut Rizki, 2009 antijamur merupakan bagian antibiotik yang membunuh atau memperlambat pertumbuhan jamur, sedangkan antibiotik sendiri merupakan suatu substansi kimia yang diperoleh dari berbagai spesies mikroorganisme, dimana dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Sukmawati *et al.*, 2016).

2.1.8 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis atau *Thin Layer Chromatography* adalah teknik analisis sederhana untuk memisahkan komponen secara tepat berdasarkan prinsip partisi dan adsorpsi. Kromatografi lapis tipis terbuat dari lempeng gelas atau logam yang tahan karat atau lempengan tipis yang cocok sebagai penyangga. Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, dimana komponen kimia

bergerak mengikuti cairan pengembang karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama, sehingga komponen kimia bergerak dengan kecepatan berbeda dan hal ini menyebabkan pemisahan (Nisa, 2013). Tujuan dari KLT dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi profil metabolit sekunder yang sama dari hasil fermentasi fungi endofit daun belimbing manis.

2.1.9 Pengujian Menggunakan Bakteri dan Jamur

Dalam melakukan pengujian menggunakan bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan salah satu golongan jamur yang dapat menginfeksi pada manusia. Bakteri yang digunakan pada gram positif adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri gram negatif menggunakan *Escherichia coli* dan salah satu golongan jamur yang digunakan *Candida albicans*.

1. Uraian Bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Brooks, G. F., *et al.* (2007) Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, non motil, tidak membentuk spora, dapat tumbuh pada berbagai media pada suasana aerob dan memproduksi katalase yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 $^{\circ}\text{C}$, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 $^{\circ}\text{C}$). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai

kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Bakteri ini dapat memfermentasikan beberapa karbohidrat dan dapat menghasilkan pigmen yang berwarna, tidak larut dalam air. Klasifikasi pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut: (Fuadati, 2015)

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Coccus
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2. Uraian Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang yang bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini merupakan bagian dari *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini akan membentuk koloni yang berbentuk sirkular, cembung dan licin jika dikultur. Beberapa strain bakteri ini akan memproduksi hemolisis jika dikultur menggunakan media Agar darah. *Escherichia coli* akan memberikan hasil positif jika dilakukan uji indol, dekarboksilase lisin, dan fermentasi mannitol, dan memproduksi gas dari glukos (Paramesti, 2014).

Menurut Smith-Keary (1988) pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm , bersifat motil dengan flagel peritrika, mempunyai kapsul dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* dapat melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan gas dari glukosa. Klasifikasi pada bakteri *Escherichia Coli* sebagai berikut: (Amanda, 2014).

Kingdom: : Prokaryot
Divisi : Bacilliales
Class : Bacillia
Ordo : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

3. Uraian Jamur *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* adalah jamur yang termasuk dalam kelompok yeast dan jenis fungi patogen dari golongan *deuteromycota*. *Candida albicans* menimbulkan penyakit baik pada manusia maupun pada hewan. Menurut Kusumaningtyas, (2009) Bentuk *Candida albicans* yaitu bulat, lonjong, atau bulat lonjong, ukuran 2-5 μ x 3-6 μ hingga 2-5,5 μ x 5-28,5 μ , dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuning-kuningan dan berbau ragi. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm.

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung, sebagai target dari beberapa antimikotik dan memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. Klasifikasi pada jamur *Candida albicans* sebagai berikut (Putri, 2013).

Kingdom : Fungi
 Division : Thallophyta
 Subdivision : Fungi
 Class : Deuteromycetes
 Order : Moniliales
 Family : Cryptococcaceae
 Genus : *Candida*
 Species : *Candida albicans*

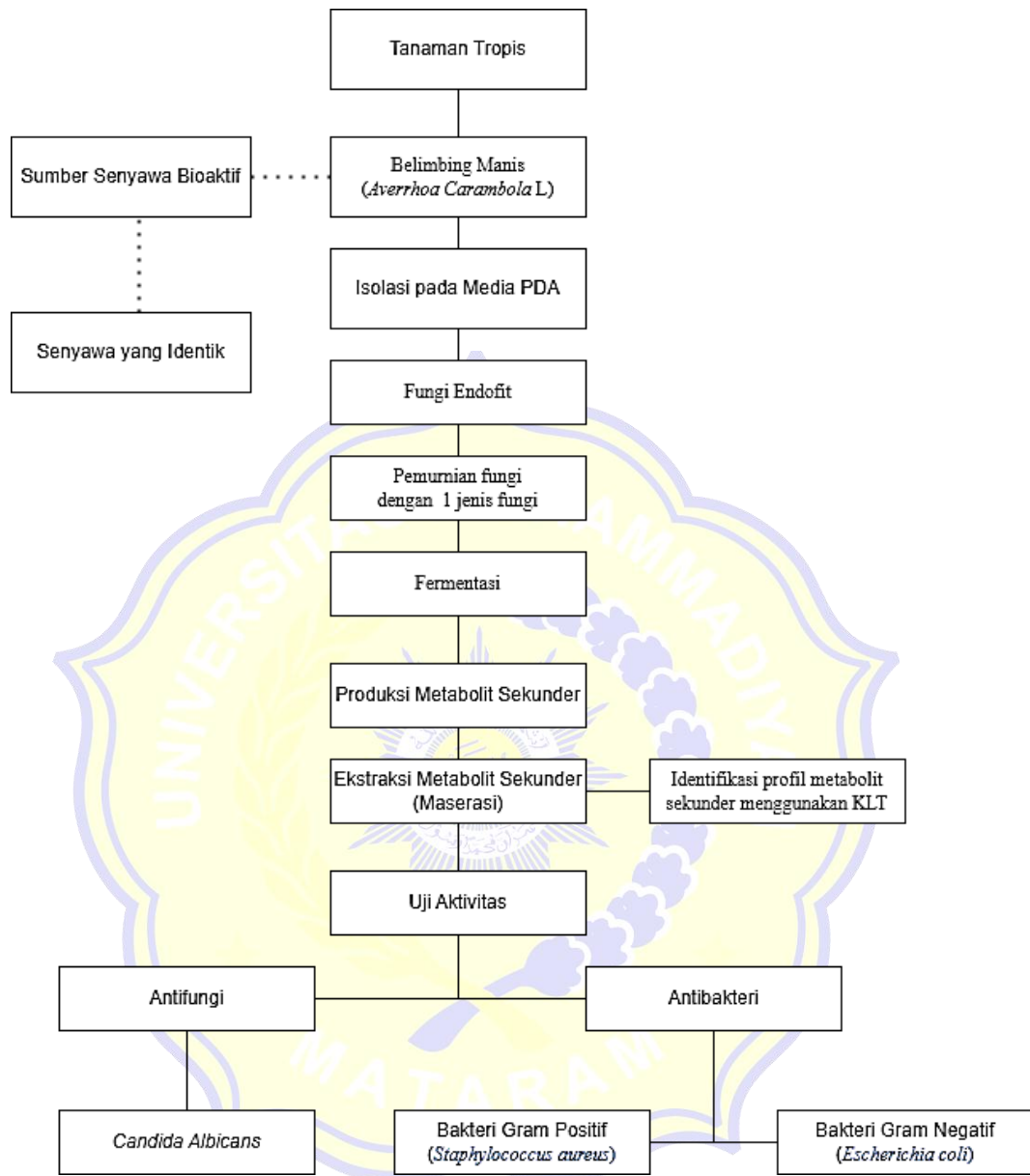
2.2 Keaslian Penelitian

Penulis	Judul	Tahun	Metode dan Hasil	Perbedaan Penelitian
Kursia <i>et al</i>	Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (<i>Moringa Oleifera</i> Lam.)	2018	Metode menggunakan isolasi untuk menentukan jamur endofit sebagai antibakteri	Pada sampel yang digunakan yaitu daun kelor sedangkan dalam penelitian

				menggunakan daun belimbing
Kjer <i>et al</i>	Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products	2010	Metode <i>eksperimental</i> dengan cara isolasi bioaktif dari sampel dan hasil penyaringan bioaktif	Pengambilan sampel tanaman dan pembuatan media padat
(Anindyawati & Dody)	Isolasi, Uji Aktifitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Aktif Kapang Endofit dari Tanaman Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	2017	<i>Eksperimental</i> dengan metode uji difusi cakram	Perbedaan pada sampel daun dengan ranting tanaman belimbing.

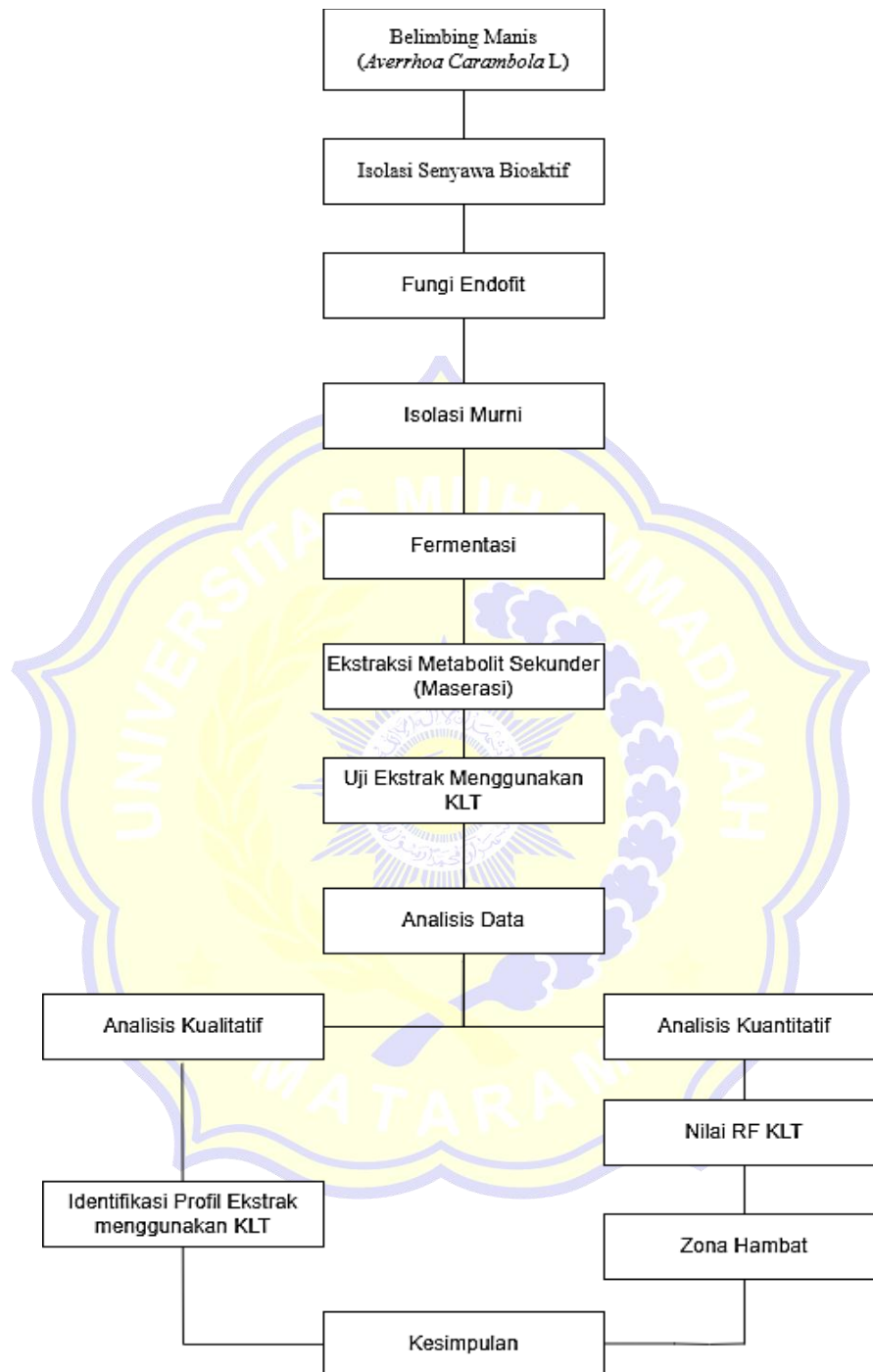
Tabel 2. 1 Keaslian Penelitian

2.3 Kerangka Teori



Gambar 2. 2 Kerangka Teori Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi dari Tanaman Belimbing Manis (*Averrhoa carambola L.*)

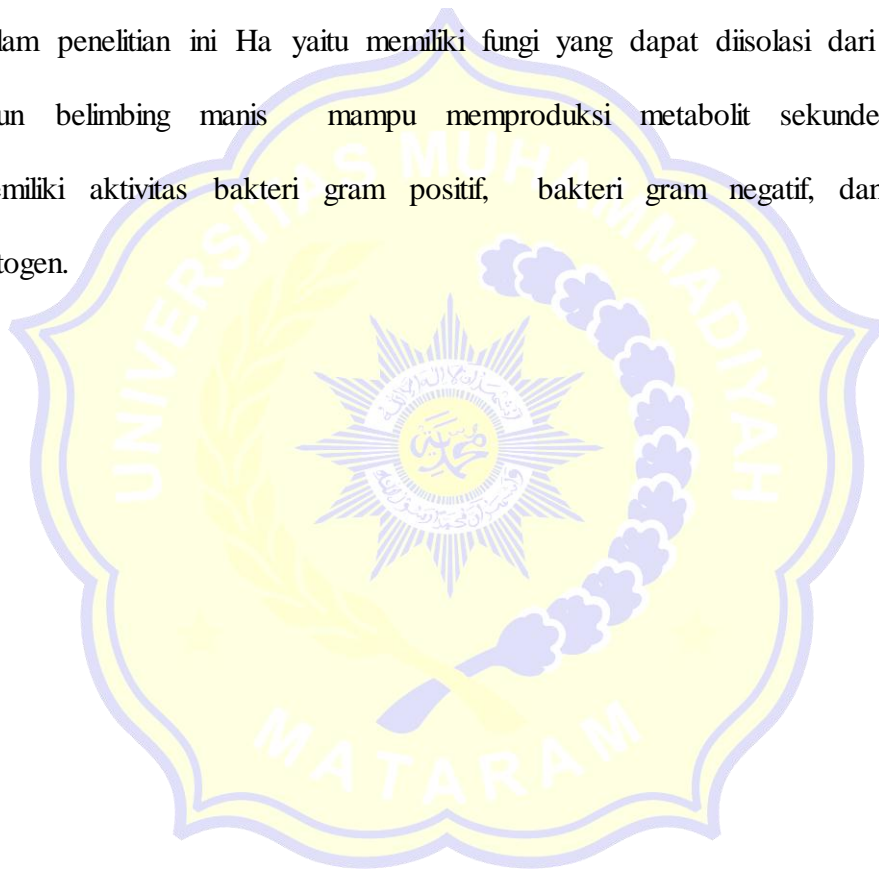
2.4 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi dari Tanaman Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)

2.5 Hipotesis

Berlandaskan dari kerangka teori dan kerangka konsep, maka dapat diketahui hipotesis dalam penelitian ini menggunakan H_0 dan H_a . H_0 adalah fungsi yang diisolasi dari sampel daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) tidak memproduksi metabolit sekunder sebagai aktivitas bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan patogen (*Candida albicans*). Diharapkan dalam penelitian ini H_a yaitu memiliki fungsi yang dapat diisolasi dari sampel daun belimbing manis mampu memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan jamur patogen.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian bersifat *True Experimental Design* dengan cara mencari data yang sebenarnya, yaitu melakukan fermentasi fungi untuk mendapatkan aktivitas ekstrak fungi yang akan diamati secara *in vitro* terhadap fungi dalam jaringan tanaman daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L). Tahapan dalam melakukan penelitian ini pengambilan sampel daun belimbing manis, pembuatan media, isolasi dan pemurnian fungi, fermentasi dengan menggunakan media padat, ekstraksi metabolit sekunder, identifikasi profil metabolit sekunder menggunakan kromatografi dan pengujian aktivitas mikroba menghasilkan penelitian senyawa baru dari daun belimbing manis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian dimulai bulan pada Oktober 2022 sampai Desember 2022. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Steril Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Riset UIN Mataram.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Utama

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemilihan sampel daun belimbing (*Averrhoa carambola* L.),

2. Variabel Terikat

Variabel Terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas daya zona hambat pertumbuhan bakteri dan jamur yang diisolasi dari daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.).

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah wadah untuk penanaman, penyimpanan dan melakukan sterilisasi yang dapat dikendalikan menggunakan klorofenikol untuk mengatasi adanya pertumbuhan bakteri pada media, waktu fermentasi, pengerjaan pada LAF, penyimpanan.

3.4 Definisi Operasional

- a. Belimbing (*Averrhoa carambola* L.) merupakan jenis belimbing yang berbentuk bintang dengan daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua.
- b. Fermentasi merupakan proses memperbanyak metabolit sekunder dari fungi endofit.
- c. Fungi endofit merupakan hasil dari isolasi tanaman daun belimbing manis yang menghasilkan senyawa yang mirip atau identik dengan tanaman inangnya
- d. Aktivitas antibakteri dan antijamur merupakan pengujian sampel terhadap zona hambat untuk mengetahui aktivitas antibakteri gram positif, gram negatif, dan antijamur dari hasil fermentasi isolat fungi endofit.

3.5 Populasi dan Sampel

3.5.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah belimbing manis yang berada di desa Masbagik, Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat.

3.5.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah belimbing manis di Desa Masbagik, Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat. Pengambilan sampel pada bagian daunnya yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, .

3.6 Alat dan Metode Pengumpulan Data

3.6.1 Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah cawan petri, api bunsen, box container, parafilm, gunting steril, tisu steril, gelas erlemeyer, timbangan analitik, autoklaf, laminar air flow, pinset, pisau steril, miropipet, kertas cakram, mixer mill, sendok tanduk, inkubator. Sedangkan bahan yang digunakan PDA (*Potato Dextrose Agar*), NB (*Nutrient broth*), NA (*Nutrient agar*), kloramfenikol, ketokonazole, etil asetat, Diclorometana, metanol, *solid rice*, aquadest steril, bakteri *S aerus*, bakteri *E coli* dan *Candida albicans*.

3.6.2 Metode Pengumpulan Data

1. Pengambilan Sampel

Dalam pengumpulan sampel daun belimbing (*Averrhoa carambola* L.) dilakukan pada pagi hari. Bagian sampel yang diambil adalah bagian daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Pada tangkai ke 5 dengan usia 7 tahun. Sampel daun dipotong-potong dengan diameter $\pm 0,6$ mm.

2. Penanaman Sampel dan Pembuatan Media

Dalam penanaman sampel fungi endofit daun belimbing (*Averrhoa carambola* L.) dilakukan pada media PDA. Formula media dibuat terlebih dahulu sebanyak PDA 8 gram dengan klorofenikol 0,2 gram dibuat dalam 1000 ml aquades. (Angelin *et al.*, 2022). Sterilisasi ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dengan waktu 20 menit. Pembuatan media dilakukan di dalam LAF dengan tetap melakukan sterilisasi alat dan bahan. Pembuatan media dengan cara menuangkan sedikit demi sedikit sebanyak 25 ml ke masing-masing cawan. Dalam sterilisasi permukaan sampel daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) dilakukan di dalam LAF yang sebelumnya melakukan pemotongan daun berdiameter 0,6 mm, kemudian dilanjutkan dengan tahapan sterilisasi dengan cara pencucian menggunakan aquadest steril selama 60 detik, kemudian dilakukan pencucian dengan alkohol 70% selama 30 detik, selanjutnya dibilas kembali dengan aquadest steril baru

selama 60 detik dan terakhir ditempatkan ke atas media PDA (Kjer *et al.*, 2010).

3. Purifikasi Fungi Endofit

Hasil penanaman sampel beberapa fungi endofit yang tumbuh pada media PDA yang diperoleh dengan jarum ose kemudian dipindahkan ke media PDA baru untuk memurnikan pertumbuhan fungi endofit. Pemurnian atau purifikasi ini bertujuan untuk memisahkan koloni fungi endofit satu dengan lainnya agar mudah untuk diamati. Setiap fungi endofit yang berbeda diisolasi pada media PDA yang berbeda sehingga diperoleh isolat murni pada setiap media. Karakterisasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati kecepatan pertumbuhan koloni, warna koloni, dan bentuk tepian koloni fungi endofit selama 3-7 hari. (Angelin *et al.*, 2022).

4. Fermentasi Fungi Endofit media *Solid Rice*

Hasil pemurnian fungi endofit yang telah tumbuh dilanjutkan dengan tahapan fermentasi. Komposisi yang digunakan dalam pembuatan media adalah PDA 8 g, dan *add aquadest* 1.000 ml yang kemudian dituangkan dan disterilisasi pada media *solid rice* untuk dijadikan sebagai media pada saat fermentasi. Selanjutnya dilakukan pemotongan media fungi endofit pada cawan untuk di pindahkan ke dalam wadah berisi media *solid rice* yang sebelumnya pengerjaannya didalam LAF. Dalam proses pekerjaan

harus dengan api bunsen atau secara aseptis untuk memastikan tidak terdapatnya kontaminasi terhadap proses fermentasi. Wadah fermentasi ditutup kembali dengan kapas wol serta aluminium foil dan diinkubasi selama 30 hari dengan suhu ruangan. (Kjer *et al.*, 2010).

5. Ekstraksi Fermentasi Fungi Endofit

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi. Menurut Darwis (2000) Proses maserasi sangat menguntungkan dalam mengisolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel dapat terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma larut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena waktu perendaman dapat disesuaikan (Nisa, 2013). Pelarut yang digunakan dalam melakukan ekstraksi adalah pelarut etil asetat yang bersifat semipolar (Kjer *et al.*, 2010).

6. Identifikasi profil kualitatif metabolit sekunder dengan Metode KLT Lapis Tipis

Identifikasi metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak fungi endofit yang diperoleh terlebih dahulu ditotolkan pada plat KLT. Plat KLT yang telah ditotol kemudian dielusi dengan eluen yang telah dijenuhkan di dalam chamber dilarutkan di dalam

Diclorometana:metanol (10:1). Selanjutnya diamati profil bercak noda pada silika gel 60 F254 UV 254 nm dan 366 nm. penyemprotan FeCl₃ untuk melihat noda yang berwarna biru kehitaman dan penyemprotan 10% H₂SO₄ kemudian dipanaskan di atas *heater* bertujuan untuk memperjelas noda KLT. Hasil yang didapatkan dari noda KLT bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang sama. Harga Rf dapat dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan (Nisa, 2013).

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

7. Uji Aktifitas Antibakteri Antijamur

Aktivitas antibakteri dan antijamur diamati dengan melihat daerah zona hambatan pertumbuhan bakteri pada kertas cakram. Uji ini juga dapat digunakan sebagai langkah awal sebelum melakukan proses produksi metabolit sekunder, hal ini untuk memastikan bahwa metabolit sekunder yang diproduksi memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Fridayanti *et al.*, 2015). Salah satu golongan jamur yang digunakan dalam aktivitas antijamur adalah *Candida albicans*. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri dan jamur uji diremajakan dan dibuat kultur adaptasinya. Bakteri dan jamur uji diremajakan terlebih dahulu dengan diambil satu ose kemudian

diinokulasikan pada media dengan menggunakan metode cawan gores (*streak plate method*) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk inkubasi bakteri sedangkan 27°C untuk inkubasi jamur. Selanjutnya bakteri uji disebar pada media baru. Selanjutnya sampel dari ekstraksi fungi endofit diambil dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dengan 27°C untuk jamur. Kemudian pengamatan dilakukan untuk mengetahui adanya zona hambat yang terbentuk, terdapatnya diameter zona hambat dapat diukur menggunakan penggaris. Isolat-isolat jamur endofit yang positif menunjukkan adanya zona hambat merupakan kandidat potensial sebagai penghasil senyawa antibakteri dan antijamur (Nurhayati *et al.*, 2020).

3.7 Metode Pengelolaan dan Analisis Data

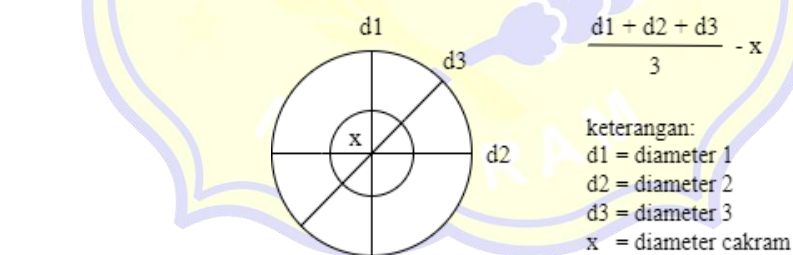
3.7.1 Metode Pengolahan Data

Dalam penelitian ini pengolahan data dapat dilakukan dengan cara menghitung diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri dan antijamur. Hasil ekstraksi fermentasi fungi endofit yang termasuk kedalam kategori akan dilakukan uji banding dengan antibiotik untuk mengetahui zona hambat yang paling luas.

3.7.2 Analisis Data

Dalam penelitian ini menggunakan analisis data kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif deskripsi untuk mengidentifikasi fungi endofit pada daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) dengan cara menyeleksi profil fungi endofit yang sama dengan menggunakan KLT. Data yang diperoleh secara kuantitatif dengan mengukur terbentuknya diameter zona bening (clear zone).

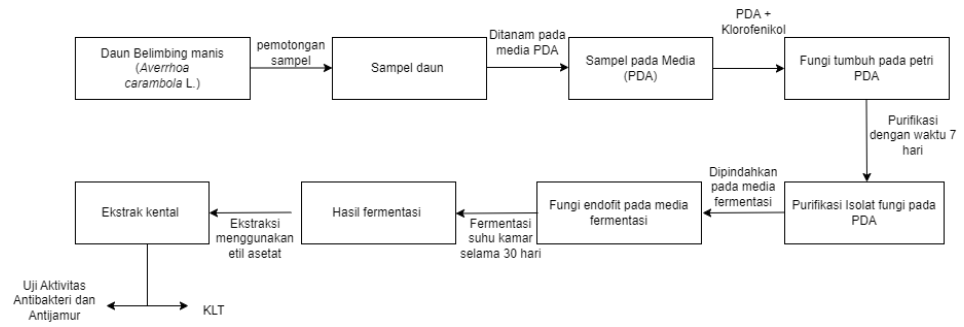
Zona bening menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan yang bersifat antibakteri atau antijamur yang akan digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur diameter dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm) (Hayati *et al.*, 2022). Pengukuran zona hambat dapat dihitung menggunakan rumus:



Gambar 3. 1 Rumus diameter zona hambat

Menurut Rahman, 2007 perhitungan aktivitas luas zona hambat dikategorikan sebagai berikut lemah <5mm, sedang 5-10 mm, kuat 10-20 mm, dan sangat kuat >20 mm (Khayum, 2015).

3.7.1 Alur penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

