

Isolation and Identification Endophyte Fungi from Daun Nona Makan Sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) as Antibacteril Against Bacteria Causing Skin Infection Using TLC-Bioautography

Aflinda Hadjar^{1*}, Fitriana¹, Ira Asmaliani²

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

²Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info

Received: 30/07/2023

Available online: 31/03/2024

Corresponding Author:

Aflinda Hadjar
Department of Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar,
South Sulawesi, Indonesia
email: rusli@umi.ac.id

ABSTRACT

Nona makan sirih (Clerodendrum thomsoniae) contains secondary metabolites that have the potential as antibacterials. The TLC-Bioautography method will determine the antibacterial activity and chemical components of endophytic fungal isolates of nona makan sirih. This research involved the isolation of endophytic fungi from leaves of nona makan sirih using PDAC media, followed by purification and macroscopic and microscopic tests. In addition, a screening test its effect againts pathogenic bacteria. The chosen isolates were fermented for 21 days. Then supernatant and mycelia were seperated. The supernatant was extracted by dissolving ethyl acetate using the liquid-liquid ectraction method. Then extract obtained was processed by TLC with the mobile phase of chloroform:methanol (8:1) and TLC-Bioautography was carried out on bacterial tests and chemical components. The results of isolation and purification obtained as many as 13 isolates. Screening test results with IFDNMS codes 6, 8 and 11 showed activity against the test bacteria. TLC-Bioautography result isolate 6 obtained 5 spots with an Rf value of 0.89; 0.65; 0.45; 0.23; 0.05 was active against all test bacteria. Isolate 8 obtained 5 spots with an Rf value of 0.89; 0.65; 0.05 was active against all tested bacteria, while 0.45 was active against P.acnes, S.aureus, and S.epidermidis bacteria and 0.23 against S.aureus bacteria. Isolate 11 obtained 5 spots with an Rf value of 0.89; 0.61; 0.45; 0.23; 0.05 against all test bacteria. The findings indicate that flavonoids and phenolics are chemical components with antibacterial activity.

Keyword:

Antibacterial, *Clerodendrum thomsoniae*, TLC-Bioautography.



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang hampir dialami di setiap negara. Infeksi merupakan suatu penyakit yang dapat ditularkan baik antar sesama manusia maupun dari hewan yang biasanya disebabkan oleh

mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Salah satu penyakit infeksi yaitu infeksi pada kulit¹. Kulit merupakan organ kompleks yang berfungsi melindungi dari lingkungan sekitar seperti agen infeksius, paparan sinar matahari, debu, dan lainnya. Penyakit kulit akibat

infeksi di negara maju jarang didapatkan namun sebaliknya di negara berkembang seperti Indonesia masih sangat sering dijumpai².

Berdasarkan data Depkes RI tahun 2012 penyakit kulit di Indonesia yaitu 8,46% dan pada tahun 2013 meningkat menjadi 9%. Menurut data Riskesdas tahun 2013, prevalensi penyakit kulit di Indonesia juga menunjukkan angka tinggi yaitu sebesar 6,78%. Berdasarkan data profil Kesehatan RI tahun 2015, penyakit kulit menjadi peringkat ketiga dari 10 penyakit terbanyak pasien rawat jalan di rumah sakit seluruh Indonesia yang berdasarkan dari kunjungan yaitu sebanyak 192.414 kunjungan dengan 122.076 kasus baru sedangkan kasus lama sebanyak 70.338 kunjungan³.

Penyakit kulit ini disebabkan oleh faktor predisposisi pada individu seperti faktor internal (keadaan sawar kulit, imunitas pejamu, gizi dan kebersihan pribadi), faktor eksternal (kebersihan lingkungan, suhu, kelembaban, letak geografis dan kepadatan penduduk yang tinggi), serta patogenitas dan virulensi mikroorganisme². Penyakit infeksi kulit ini dapat diobati dengan menggunakan antibiotik⁴.

Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan, salah satu

diantaranya adalah resistensi antibiotik⁵. Pencarian agen antibakteri baru perlu dilakukan untuk mendapat alternatif antibiotik lain, salah satunya dengan memanfaatkan agen anti bakteri yang bersumber bahan alam seperti tumbuhan⁴.

Tumbuhan dijadikan sebagai suatu obat karena memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat mengobati penyakit. Mikroorganisme endofit menghasilkan bahan-bahan yang dapat dijadikan sebagai suatu obat antibakteri yang tumbuh dalam inang jaringan dan memiliki sifat yang sama dengan sel inang tanaman. Salah satu cara memperoleh senyawa antibakteri yaitu dengan melakukan isolasi fungi endofit⁶.

Menurut Banne (2017) salah satu tumbuhan yang obat berpotensi dijadikan sebagai pengobatan antibakteri adalah daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsonae*). Daun nona makan sirih ini mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik⁷.

Menurut Kalita, Singh, & Khan (2020) tanaman spesies *Clerodendrum thomsoniae* banyak tumbuh dinegara wilayah timur laut (NER) dan banyak digunakan terus menerus oleh masyarakat setempat untuk pengobatan penyakit seperti anti-mikroba, anti-helmintik, anti-inflamasi, anti-malaria, anti-diabetes, hepatoprotektif, gangguan pencernaan, tekanan darah tinggi, demam tinggi, asma, dll. Berdasarkan studi fitokimia yang

dilakukan dikatakan bahwa spesies *Clerodendrum thomsoniae* memiliki senyawa utama seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, steroid, dll⁸.

Berdasarkan penjelasan diatas, hal inilah yang mendasari peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang isolasi fungi endofit terhadap daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) yang memiliki potensi sebagai penghasil antibakteri penyebab infeksi kulit.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri (*Anumbra*), vial, oven (*Memert*), autoklaf (*SMIC Model XY-280 B*), Erlenmeyer (*Iwaki Pyrex*), gelas kimia (*Iwaki Pyrex*), Laminar Air Flow (LAF), api bunsen, ose, mikroskop, alumium foil (*bagus*), kertas saring, objek glass, penutup object glass, pipet tetes, tabung reaksi (*pyrex*), spektro, kuvet, spoit, shaker, cawan porselin, corong, lempeng klt, pipa kapiler (*Nesco*), pinset, dan lampu uv 254 nm 366 nm.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, aquadest, natrium hipoklorit (*NaOCl*), medium PDA (*Potato Dextrosa Agar*), kloramfenikol, medium NA (*Nutrien Agar*), medium MYB (*Maltosa Yeast Broth*), bakteri uji (*Pseudomonas auroginosa* ATCC 27853, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990), NaCl fisiologis

0,9%, etil asetat, pereaksi (*dragendorf*, *AlCl₃*, *FeCl₂*, *KOH*, *Lieberman-Burchard*) dan sampel sampel daun Nona Makan Sirih (*Clerodendrum thomsoniae*).

Pengambilan dan penyiapan sampel

Sampel daun Nona Makan Sirih yang masih muda, berwarna hijau, dan segar dicuci bersih dengan air, kemudian permukaan daun disterilkan secara bertahap dengan cara direndam dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit, lalu direndam dalam natrium hipoklorit (*NaOCl*) 1% selama 5 menit. Setelah itu di rendam kembali dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali. Daun yang telah disterilisasi permukaan selanjutnya dikeringkan diatas kertas saring steril. Daun kemudian dipotong menjadi beberapa bagian dengan menggunakan prosedur yang aseptis⁵.

Isolasi dan pemurnian fungi endofit dari daun nona makan sirih

Daun nona makan sirih yang telah disterilkan selanjutnya dipotong kecil dan diletakkan diatas medium *potato Dextrosa Agar Chloramphenicol* (PDAC) pada cawan petri dan diinkubasi suhu 25°C-30°C selama 3 hari⁹.

Pemurnian fungi endofit dilakukan dengan cara memindahkan masing-masing isolat fungi endofit ke media PDA baru, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3-5 hari. Pemurnian dilakukan hingga diperoleh isolat fungi endofit murni yang tunggal⁹.

Pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik

Pemeriksaan makroskopik fungi endofit dilakukan dengan mengamati morfologi dan warna koloni¹⁰. Sedangkan pemeriksaan secara mikroskopik dilakukan secara tidak langsung yaitu dengan cara disterilkan cawan petri berisi *object glass* dengan penyangga aluminium foil dan kertas saring. Diinokulasikan isolat fungi pada *object glass* yang telah berisi medium yang belum memadat sebanyak 1 tetes kemudian ditutup dengan *deck glass*, ditetaskan gliserin pada kertas saring secara merata kemudian diinkubasi selama 3-5 hari dan selanjutnya diamati menggunakan mikroskop¹¹.

Penyiapan bakteri uji

Bakteri uji masing-masing diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasi dengan digoreskan pada medium NA miring. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam¹².

Bakteri hasil peremajaan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga diperoleh transmittansi 25% menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan digunakan larutan NaCl fisiologi 0,9% sebagai blanko¹².

Uji skrining aktivitas antibakteri fungi endofit

Isolat fungi endofit diinokulasi kedalam medium NA yang berisi bakteri uji, dimana isolat tersebut ditempelkan diatas

permukaan media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam lalu diamati zona hambat yang terbentuk yang memiliki potensi sebagai antibakteri¹².

Fermentasi dan ekstraksi fungi endofit

Isolat fungi endofit yang memiliki kemampuan menghambat bakteri terbesar diinokulasikan kedalam Erlenmeyer 500 mL yang berisi medium MYB 250 mL, kemudian di shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 21 hari¹³.

Hasil fermentasi disaring untuk memisahkan supernatan dan miselia. Supernatan di ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat (1:1 v/v), setelah itu pelarut diuapkan hingga diperoleh ekstrak kering⁹.

Identifikasi secara kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan KLT-Bioautografi

Ekstrak kental fermentat fungi endofit diidentifikasi secara KLT dengan menggunakan campuran eluen kloroform : metanol (8:1). Setelah itu ekstrak di totolkan ekstrak pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Setelah itu dicari bercak kromatogram yang dihasilkan di bawah spektrum UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai R_fnya¹².

Hasil identifikasi KLT dengan eluen yang terbaik dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara menuang medium sebanyak 10 mL kedalam cawan petri dan ditambahkan dengan suspensi bakteri sebanyak 20 µL lalu dihomogenkan. Setelah

itu lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, kemudian dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Amati bercak yang memberikan aktivitas penghambat terhadap pertumbuhan bakteri uji¹².

Identifikasi metabolit sekunder

Uji alkaloid

Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi Dragendorf. Dikatakan positif mengandung alkaloid apabila bercak noda yang terbentuk berwarna jingga berlatar belakang kuning⁷.

Uji flavonoid

Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan $AlCl_3$. Dikatakan positif mengandung flavonoid apabila bercak noda yang terbentuk berwarna kuning⁷.

Uji fenolik

Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan $FeCl_3$. Dikatakan positif mengandung fenol apabila bercak noda yang terbentuk berwarna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan⁷.

Uji antarkuinon dan kurmin

Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan KOH. Dikatakan positif mengandung antarkuinon apabila bercak noda yang terbentuk berwarna merah, dan dikatakan positif mengandung kurmin apabila bercak noda yang terbentuk berwarna biru⁷.

Uji steroid/triterpenoid

Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi *Lieberman-Burchard*. Dikatakan positif mengandung steroid apabila menghasilkan warna hijau atau biru dan triterpenoid menghasilkan warna merah atau ungu⁷.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Infeksi merupakan suatu penyakit yang dapat ditularkan baik antar sesama manusia maupun dari hewan yang biasanya disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Salah satu penyakit infeksi yaitu infeksi pada kulit. Penyakit infeksi kulit biasanya disebabkan oleh bakteri seperti *Pseudomonas auroginosa*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*.

Penelitian ini diawali dengan sterilisasi permukaan dan isolasi fungi endofit daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) menggunakan alkohol 70% dan natrium hipoklorit. Alkohol 70% bekerja dengan merusak lapisan membran sel mikroorganisme. Alkohol dapat melarutkan lipid dan mendenaturasi protein pada membrane sel sehingga dapat mengganggu fungsi membran sel dalam tranportasi cairan ke dalam dan keluar sel sehingga sel mikroorganisme menjadi lisis¹⁴. Natrium hipoklorit digunakan karena alkohol memiliki spektrium yang sempit dalam mensterilkan permukaan tumbuhan sehingga perlu dikombinasikan dengan

Tabel 1. Hasil makroskopik isolat fungi daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*).

Kode Fungi	Bentuk Koloni	Elevasi Koloni	Tepi Koloni	Warna
IFDNMS 1	<i>Round with raised margin</i>	<i>Crateriform</i>	<i>Smooth</i>	Hijau kehitaman
IFDNMS2	<i>Concentric</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Ciliate</i>	Putih, coklat muda
IFDNMS 3	<i>Round</i>	<i>Raised</i>	<i>Wooly</i>	Putih, coklat kehitaman
IFDNMS 4	<i>Filiform</i>	<i>Hilly</i>	<i>Wavy</i>	Hitam
IFDNMS 5	<i>Irregular and spreading</i>	<i>Crateriform</i>	<i>Ciliate</i>	Putih, cream
IFDNMS 6	<i>Filiform</i>	<i>Hilly</i>	<i>Lobate</i>	Hitam
IFDNMS 7	<i>Irregular and spreading</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Branching</i>	Putih
IFDNMS 8	<i>Round</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Wavy</i>	Hitam
IFDNMS 9	<i>Round with raised margin</i>	<i>Convex</i>	<i>Wooly</i>	Putih kecoklatan
IFDNMS 10	<i>Round with raised margin</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Smooth</i>	Abu kehitaman
IFDNMS 11	<i>Concentric</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Wooly</i>	Putih, coklat muda
IFDNMS 12	<i>Complex</i>	<i>Convex</i>	<i>Ciliate</i>	Putih
IFDNMS 13	<i>Round with raised margin</i>	<i>Flat</i>	<i>Ciliate</i>	Cream

bahan kimia lain¹⁵. Sampel dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3 kali diakhir untuk membersihkan sisa-sisa alkohol sebelumnya¹⁶.

Potongan dari daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) diinokulasikan dalam medium PDAC (*Potato Dextrosa Agar Chloramphenicol*). Medium PDA digunakan karena mengandung ekstrak kentang yang merupakan salah satu karbohidrat. Fungi dapat tumbuh pada medium PDA karena memiliki enzim yang dapat memotong polisakarida menjadi monosakarida yang dapat digunakan sebagai kelangsungan hidupnya¹⁷. Obat antibiotik yang digunakan pada penilaian ini adalah kloramfenikol digunakan untuk menghambat

pertumbuhan bakteri pada medium sehingga mengurai kontaminasi pada media tersebut¹⁴.

Isolat fungi endofit yang diperoleh dari daun nona makan sirih yaitu sebanyak 13 isolat. Isolat fungi endofit yang telah dimurnikan selanjutnya ditentukan karakteristiknya secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan secara makroskopik meliputi bentuk, elevasi, tepi, dan warna koloni sehingga dapat diketahui persamaan maupun perbedaan morfologi maupun warna isolat yang diperoleh. Hasil isolasi dan makroskopik dapat dilihat pada tabel 1

Berdasarkan tabel diatas isolat fungi daun nona makan sirih (IFDNMS) 1 berwarna

Tabel 2. Hasil mikroskopik isolat fungi daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*)

Kode Fungi	Hifa	Spora
IFDNMS 1	Bersekak	Ada
IFDNMS 2	-	Ada
IFDNMS 3	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 4	-	Ada
IFDNMS 5	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 6	-	Ada
IFDNMS 7	-	Ada
IFDNMS 8	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 9	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 10	-	Ada
IFDNMS 11	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 12	Tidak bersekak	Ada
IFDNMS 13	Tidak bersekak	Ada

hijau kehitaman memiliki bentuk koloni *round with raised margin, elevasi crateriform* dan tepi yang *smooth*. IFDNMS 2 berwarna putih-coklat muda berbentuk *concentric* dengan elevasi *umbonate* dan tepi *ciliate*. IFDNMS 3 berwarna putih-coklat kehitaman berbentuk *round* dengan elevasi *raised* dan tepi *wooly*. IFDNMS 4 berwarna hitam berbentuk *filiform* dengan elevasi *hilly* dan tepi *wavy*. IFDNMS 5 putih-cream berbentuk *irregular and spreading* dengan elevasi *crateriform* dan tepi *ciliate*. IFDNMS 6 berwarna hitam berbentuk *filiform* dengan elevasi *hilly* dan tepi *lobate*. IFDNMS 7 berwarna putih berbentuk *irregular and spreading* dengan elevasi *umbonate* dan tepi *branching*. IFDNMS 8 berwarna hitam berbentuk *round* dengan elevasi *umbonate* dan tepi *wavy*. IFDNMS 9 berwarna putih

kecokatan berbentuk *round with raised margin* dengan elevasi *convex* dan tepi *wooly*. IFDNMS 10 berwarna abu kehitaman berbentuk *round with raised margin* dengan elevasi *umbonate* dan tepi *smooth*. IFDNMS 11 berwarna putih-coklat muda berbentuk *concentric* dengan elevasi *umbonate* dan tepi *wooly*. IFDNMS 12 berwarna putih berbentuk *complex* dengan elevasi *convex* dan tepi *ciliate*. IFDNMS 13 berwarna cream berbentuk *round with raised margin* dengan elevasi *flat* dan tepi *ciliate*.

Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopik secara tidak langsung. Pada pengujian ini digunakan kertas saring yang berada dibawah batang V. Kemudian ditetaskan gliserin agar cawan petri tetap dalam keadaan lembab sehingga jamur dapat tumbuh dengan baik selama proses

Tabel 3. Hasil uji Skrining daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*)

No.	Kode Isolat Jamur	Diameter Zona Hambatan (mm)			
		<i>P. auroginosa</i>	<i>P. acnes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
1.	IFDNMS 1	-	-	-	-
2.	IFDNMS 2	-	-	-	-
3.	IFDNMS 3	-	-	-	-
4.	IFDNMS 4	-	-	-	-
5.	IFDNMS 5	-	-	-	-
6.	IFDNMS 6	8,63	10,53	9,4	9,52
7.	IFDNMS 7	-	-	-	-
8.	IFDNMS 8	10,38	9,95	8,09	8,90
9.	IFDNMS 9	-	-	-	-
10.	IFDNMS 10	-	-	-	-
11.	IFDNMS 11	9,81	11,26	12,12	11,62
12.	IFDNMS 12	-	-	-	-
13.	IFDNMS 13	-	-	-	-

Keterangan : (-) tidak terbentuk zona hambat

inkubasi. Hasil pengujian secara mikroskopik dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan tabel hasil pengamatan mikroskopik diatas isolat fungi daun nona makan sirih (IFDNMS) 1 memiliki hifa yang bersekat sementara isolat IFDNMS 3, 5, 8, 9, 11, 12, dan 13 memiliki hifa yang tidak bersekat. Untuk isolat IFDNMS 2, 4, 6, 7, dan 10 tidak terlihat hifa yang terbentuk dikarena beberapa faktor kesalahan yang terjadi pada saat penanaman isolat. Seluruh isolat fungi memiliki spora.

Langkah selanjutnya yaitu uji skrining Pengujian ini bertujuan untuk melihat isolat aktif yang memiliki potensi sebagai antibakteri yaitu dengan mengamati zona hambat yang terbentuk. Hasil dari uji skrining dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil uji skrining pada tabel diatas menunjukkan bahwa IFDNMS 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 dan 10 tidak terbentuk zona hambat, sedangkan IFDNMS 6, 8 dan 11 terbentuk

zona hambat yang lemah. Pada isolat IFDNMS 6 terbentuk zona hambat tetapi hanya pada bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter 10,53 mm. Pada isolat IFDNMS 8 zona hambat yang terbentuk hanya pada bakteri *Pseudomonas auroginosa* dengan diameter sebesar 10,38 mm. Untuk isolat IFDNMS 11 terbentuk zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter 11,26 mm, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan diameter 12,12 mm, dan bakteri uji *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter 11,62 mm. Isolat IFDNMS yang menunjukkan zona hambat yaitu isolat IFDNMS 6, 8, dan 11 kemudian dilanjutkan ke proses fermentasi.

Isolat fungi endofit dengan kode IFDNMS 6,8, dan 10 dilanjutkan dengan proses fermentasi pada medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB) dan dikocok selama 21 hari. *Maltosa Yeast Broth* (MYB) digunakan karena merupakan suatu media cair yang

mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, pepton sebagai sumber asam amino, serta maltosa dan dekstrosa sebagai sumber karbon yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi, dan metabolisme mikroorganisme. Tujuan pengocokan selama 21 hari agar dapat mempercepat mikroba menghasilkan metabolit sekunder dan membantu mempercepat mikroorganisme mencapai fase stasioner. Pada fase ini nutrisi mulai berkurang sehingga mikroorganisme berusaha mempertahankan hidupnya dengan cara menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain yang disebut antibiotika¹³.

Isolat IFDNMS 6, 8, dan 10 yang telah difermentasi selanjutnya disaring kemudian supernatan yang diperoleh diekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat digunakan karena merupakan pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa polar maupun nonpolar. Selain itu etil asetat juga mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas yang rendah¹³.

Ekstrak kering yang diperoleh kemudian diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (8 : 1). Kloroform : metanol digunakan karena memiliki kepolaran yang berbeda yang dapat memisahkan senyawa pada proses kromatografi. Kloroform bersifat semi polar

dan sifat kepolarannya sangat rendah dibandingkan dengan pelarut polar, sedangkan metanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga cepat untuk mengekstraksi senyawa.

Hasil KLT dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi untuk menentukan profil bioautogram dari ekstrak fermentat daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) dalam menghambat pertumbuhan pertumbuhan mikroorganisme. Hasil dapat dilihat pada tabel 4.

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa bakteri yang dihambat pada setiap nilai Rf satu dengan nilai Rf yang lain terkadang sama dan terkadang berbeda. Hal ini diakibatkan oleh bercak pada setiap nilai Rf menunjukkan senyawa yang berbeda, sehingga kemampuan menghambatnya juga berbeda. Senyawa dengan nilai Rf yang sama atau hampir sama dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Senyawa yang mempunyai nilai Rf yang lebih besar merupakan senyawa yang memiliki kepolaran yang rendah, begitu pula sebaliknya. Ini disebabkan karena fase diam yang bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah¹⁸.

Setelah itu dilakukan identifikasi komponen kimia ekstrak fungi endofit daun

Tabel 4. Hasil profil kromatogram secara KLT-Bioautografi ekstrak fermentat isolat fungi daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*).

Isolat	Nilai Rf	Warna pada penampak bercak		Bakteri
		UV 254 mm	UV 366 mm	
IFDNMS 6	0,89	Hijau	Ungu	<i>P. auroginosa, P. acnes, S.aureus, dan S.epidermidis</i>
	0,65			
	0,45			
	0,23			
	0,05			
IFDNMS 8	0,89	Hijau	Ungu	<i>P. auroginosa, S. aureus, P. acnes dan S. epidermidis</i>
	0,65	Hijau	Ungu	<i>P. acnes dan S. epidermidis</i>
	0,45	Hijau	Ungu	<i>S. aureus</i>
	0,23	Hijau	Ungu	<i>P. auroginosa, S. aureus, P. acnes dan S. epidermidis</i>
	0,05	Hijau	Ungu	<i>P. auroginosa, S. aureus, P. acnes dan S. epidermidis</i>
IFDNMS 11	0,89	Hijau	Ungu	<i>P. auroginosa, P.acnes, S.aureus, dan S.epidermidis</i>
	0,61			
	0,45			
	0,23			
	0,05			

Tabel 5. Hasil pengujian identifikasi komponen kimia aktif dari kromatogram daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*)

No	Komponen kimia	Pereaksi	Warna pada penampak bercak	Hasil
1	Alkaloid	Dragendorf	Jingga berlatar belakang kuning	-
2	Flavonoid	AlCl ₃	Kuning	+
3	Fenolik	FeCl ₃	Biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan	+
4	Antarkuinon dan kurmin	KOH	Biru	-
5.	Steroid/ triterpenoid	Lieberman-Burchard	Merah atau ungu	-

nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*). Pengujian dilakukan untuk mengetahui adanya komponen kimia yang terdapat dalam daun nona makan sirih seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik. Identifikasi golongan komponen kimia yang terkandung dalam daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) dilakukan dengan menyemprot pada

lempeng KLT yang sebelumnya telah ditotolkan ekstrak fungi daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) dan dielusi dengan eluen kloroform:metanol (8:1), setelah itu disemprotkan dengan beberapa pereaksi spesifik penampak bercak. Hasil identifikasi komponen kimia daun nona makan sirih dapat dilihat pada tabel 5.

Berdasarkan hasil identifikasi komponen kimia diketahui bahwa daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji alkaloid setelah disemprotkan pereaksi $AlCl_3$ yang menghasilkan warna kuning pada penampak bercak. Hasil uji fenolik yang setelah disemprotkan pereaksi $FeCl_3$ menghasilkan bercak berwarna biru kehitaman. Untuk senyawa alkaloid, antarkuinon dan kurmin, serta steroid/triterpenoid tidak terkandung dalam daun nona makan sirih.

Mekanisme flavonoid sebagai bakterisidal yaitu dengan cara menyebabkan kerusakan pada membran sitoplasma dan dinding sel bakteri. Mekanisme flavonoid merusak membran sitoplasma yaitu dengan cara menyerang fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga fosfolipid tidak mampu mempertahankan membran sitoplasma yang akhirnya mengakibatkan terjadinya kebocoran pada membran sitoplasma dan zat-zat yang berfungsi untuk metabolisme sel bakteri terbuang keluar sehingga terjadi kematian pada bakteri dan untuk mekanisme kerusakan dinding sel yaitu dengan membentuk gugus alkohol, yang mana gugus alkohol tersebut akan bereaksi dengan lipid dan asam amino yang merupakan struktur dinding sel bakteri sehingga terjadi kerusakan dinding sel bakteri, ketika terjadi kerusakan pada

dinding sel bakteri senyawa flavonoid akan terus masuk hingga ke dalam inti sel bakteri, di dalam inti sel senyawa flavonoid berkontak dengan DNA yang akhirnya menyebabkan kerusakan pada struktur lipid DNA sehingga bakteri lisis dan sel akan mati¹⁹.

Mekanisme kerja fenolik dalam membunuh sel bakteri, yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri. Akibat terdenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti sebab semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein²⁰.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa fungi endofit pada daun nona makan sirih (*clerodendrum thomsoniae*) berpotensi sebagai antibakteri. Profil kromatogram senyawa antibakteri dari hasil isolasi fungi endofit daun nona makan sirih (*clerodendrum thomsoniae*) secara KLT-Bioautografi didapatkan beberapa bercak yaitu isolat 6 diperoleh 5 bercak dengan nilai Rf 0,89; 0,65; 0,45; 0,23; 0,05 aktif terhadap semua bakteri uji, isolat 8 diperoleh 5 bercak dengan nilai Rf 0,89; 0,65; 0,05 aktif terhadap semua bakteri uji, sedangkan 0,45 terhadap bakteri *P.acnes*, *S.aureus*, dan *S.epidermidis* serta 0,23 terhadap bakteri *S.aureus*, serta isolat 11 diperoleh 5 bercak dengan nilai Rf 0,89; 0,61; 0,45; 0,23; 0,05 terhadap semua bakteri uji. Komponen

kimia pada daun nona makan sirih (*clerodendrum thomsoniae*) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu flavonoid dan fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nurrahma, E.A. *Antibacterial Activity Of Bidara Leaves (Ziziphus mauritiana L.) Ethanol Extract Some Test Bacteria*. Journal Microbiology Science. 2022;2(2):38-47.
2. Radityastuti, & Anggraeni, P. Karakteristik Penyakit Kulit Akibat Infeksi di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Dr. Kariadi Semarang Periode Januari 2008-Desember 2010. Media Medika Muda. 2017;2(2):137-142.
3. Agustina, F., Zakaria, R., & Santi, T.D. Hubungan Personal Hygiene Dengan Keluhan Penyakit Kulit Masyarakat Desa Tuwi Kayee Kecamatan Panga Kabupaten Aceh Jaya Tahun 2022. Journal of Health and Medical Science. 2022;1(4):142-149.
4. Putri, N.A.A., Triatmoko, B., & Nugraha, A.S. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Staphylococcus aureus*. PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia). 2021;18(1):1-9.
5. Adityawarman, Mahyarudin, & Effiana. Isolasi, Identifikasi, dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap *Escherichia coli*. Jurnal Cerebellum. 2019;5(4b):1569-1582.
6. Murdiyah, S. Fungi Endofit Pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat di Kawasan Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Praktikum Mata Kuliah Mikologi. Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia. 2017;3(1):64-71.
7. Banne, L.H., Annisa, N., & Ramadhan, A.M. Identifikasi Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Daun Nona Makan Sirih (*Clerodendrum thomsoniae*). Proceeding of the 6th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 2017;7(8):120-126.
8. Kalita, J., Singh, S.S., & Khan, M.L. *Ethnomedical Value and Antidiabetic Potential of Clerodendrum Spp. Occurring in Northeastern Region*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch. 2020;11(10):5112-5124.
9. Deponda, R.A., Fitriana, Nuryanti, S., & Herwin. Isolasi Fungi Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Secara Metode KLT-Bioautografi'. As-Syifaa Jurnal Farmasi. 2019;11(2):147-153.
10. Aliyah, S. H., Musfirotun, & Antriana, N. Aktivitas Antibakteri Isolat Kapang Endofit Dari Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Meer). Jurnal Biosense. 2021;4(2):20-30.
11. Hasiani, V.V., Ahmad, I., & Rijai, L. Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). Jurnal Sains dan Kesehatan. 2015;1(4):146-153.
12. Rusli, Kosman, R., & Melinda, P. Penelusuran Fungi Endofit Pada Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang Berpotensi sebagai Penghasil Antibakteri terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Kulit'. As-Syifaa Jurnal Farmasi. 202;12(1):64-69.
13. Nuryanti, S., Rusli, & Astuti R. Potensi Fungi Endofit Biji Pinang Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*. Green Medical Journal: Jurusan Kedokteran. 2019;1(1):1-9.

14. Juwita, D., Puspita, F., & Haryani, Y. Isolasi Jamur Endofit dari Akar Mangrove Kabupaten Bengkalis. 2019. *Skripsi*. Pekanbaru : Universitas Riau.
15. Agusta, A. 2009. Biologi dan Kimia Fungi Endofit. Jakarta : Erlangga.
16. Sinaga, N. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit Batang Tanaman Paku Harupat (*Nephropis bisserata*) dari Tanah Gambut. 2016. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
17. Pratiwi, A.E. 2015. Isolasi, Seleksi dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit dari Daun Tanaman *Garcinia benthani* Pierre terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
18. Dewi, T.M., Herawati, D., & Hamdani, S. Analisis Kualitatif Residu Antibiotika Tetrasiklin Pada Madu. Prosiding Penelitian SPeSIA. 2015.
19. Amada, E.A., Oktaviani, B.W., & Panjaitan, F.U.A. Efektivitas Bakteri Ekstrak Flavonoid Propolis *Trigona Sp* (*Trigona thorasica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Dentin (Jurnal Kedokteran Gigi)*. 2019;3(1):23-28.
20. Marfuah, I., Dewi, E.N., & Rianingsih, L. Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulera racemonas*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.