

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FUNGSI ENDOFIT DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.)
TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*
DAN *Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI



Oleh:

ALIFA AMALIAH MALIK

PO.71.4.251.20.1.007

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN FARMASI
JURUSAN FARMASI
POLTEKKES KEMENKES MAKASSAR
2024**

HALAMAN JUDUL

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FUNGI ENDOFIT DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.)
TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*
DAN *Klebsiella pneumoniae*

SKRIPSI



ALIFA AMALIAH MALIK
PO.71.4.251.20.1.007

PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN FARMASI
JURUSAN FARMASI
POLTEKKES KEMENKES MAKASSAR
2024

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI
ENDOFIT DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.)
TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*
DAN *Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Terapan Farmasi
Pada Jurusan Farmasi Poltekkes
Kemenkes Makassar

Alifa Amaliah Malik

PO714251201007

Disetujui Oleh :

Pembimbing I



Alfrida Monica Salasa, S.Si., M.Kes

NIP. 19810401 200604 2 016

Pembimbing II



Dr. Sesilia R. Pakadang, S.Si., M.Si., Apt

NIP. 19690922 200012 2 001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi
Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap
Streptococcus pneumoniae dan *Klebsiella pneumoniae*
Penyusun : Alifa Amaliah Malik
NIM : PO714251201007
Pembimbing I : Alfrida Monica Salasa, S.Si., M.Kes
Pembimbing II : Dr. Sesilia R. Pakadang, S.Si., M.Si., Apt
Tanggal Ujian :

Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II



Alfrida Monica Salasa, S.Si., M.Kes

NIP. 19810401 200604 2 016



Dr. Sesilia R. Pakadang, S.Si., M.Si., Apt

NIP. 19690922 200012 2 001

Mengetahui :

Ketua Program Studi
Sarjana Terapan Farmasi



Santi Sinala, S.Si., M.Si., Apt

NIP. 19830928 200812 2 001

Ketua Jurusan Farmasi
Poltekkes Kemenkes Makassar



Ida Adhayanti, S.Si., M.Sc., Apt

NIP. 19840829 200801 2 055

LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

Skripsi ini telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Skripsi Jurusan Farmasi
Poltekkes Kemenkes Makassar Pada Tanggal 14 Juni 2024.

TIM PENGUJI

1. Arisanty, S.Si.,M.Si.,Apt.
2. Ratnasari Dewi, S.Si.,M.Kes.
3. Abdul Gafur, S.Farm.,M.Kes.,Apt.
4. Alfrida Monica Salasa, S.Si.,M.Kes.
5. Dr. Sesilia Rante Pakadang, S.Si.,M.Si.,Apt.

()
()
()
()
()

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi
Poltekkes Kemenkes Makassar



Ida Adhayanti, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP. 19840829 200801 2 055

LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, tetapi tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Poltekkes Kemenkes Makassar, diperkenankan dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun, dan harus menyebutkan sumbernya sesuai dengan kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Poltekkes Kemenkes Makassar.

ABSTRAK

Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai antihiperglikemik, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan dan diyakini secara empiris mengobati batuk. *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri penyebab infeksi saluran pernapasan seperti batuk. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat fungi endofit dari Daun Ciplukan yang berpotensi dapat menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Fungi endofit diisolasi dengan cara; sterilisasi Daun Ciplukan dengan alkohol 75%, dan NaOCl 5%, selanjutnya diinokulasi berulang pada media SDA selama 5-7 hari hingga diperoleh isolat. Masing-masing isolat difermentasi pada media PDB 2-3 minggu kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Ekstrak etil asetat diskriminasi fitokimia untuk mengetahui metabolit sekundernya dan digunakan untuk pengujian antibakteri dengan metode difusi agar pada media MHA. Hasil penelitian menunjukkan diperoleh 5 isolat murni yaitu isolat DC 1 diduga *Aspergillus flavus*, isolat DC 2 diduga *Aspergillus fumigatus*, isolat DC 3 diduga *Colletotrichum* sp., isolat DC 4 diduga *Cylindrocladium*, isolat DC 5 diduga *Aspergillus niger*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan isolat DC 2 positif mengandung flavonoid, tannin, polifenol dan negatif saponin dan alkaloid, isolat DC 4 positif mengandung saponin, tannin, alkaloid, polifenol dan negatif flavonoid, isolat DC 5 positif mengandung tannin, alkaloid, polifenol dan negatif flavonoid dan saponin. Hasil uji antibakteri ditemukan bahwa semua isolat yang ditemukan pada Daun Ciplukan berpotensi dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* atau bersifat bakteristatik, sedangkan isolat DC 1 merupakan isolat yang tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan isolat DC 2 tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Kata Kunci: Daun Ciplukan, Fungi Endofit, Antibakteri, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Ciplukan leaves (*Physalis angulata* L.) are a plant that is used as an antihyperglycemic, antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant and is empirically believed to treat coughs. *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* are bacteria that cause respiratory tract infections such as coughs. This research aims to obtain endophytic fungal isolates from *Ciplukan* leaves which have the potential to produce secondary metabolites as antibacterials against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*. Endophytic fungi are isolated by; Sterilize *Ciplukan* leaves with 75% alcohol and 5% NaOCl, then inoculate repeatedly on SDA media for 5-7 days until an isolate is obtained. Each isolate was fermented in PDB media for 2-3 weeks and then extracted with ethyl acetate. The ethyl acetate extract was screened phytochemically to determine secondary metabolites and used for antibacterial testing using the agar diffusion method on MHA media. The research results showed that 5 pure isolates were obtained, namely isolate DC 1 suspected of being *Aspergillus flavus*, isolate DC 2 suspected of being *Aspergillus fumigatus*, isolate DC 3 suspected of being *Colletotrichum* sp., isolate DC 4 suspected of being *Cylindrocladium*, isolate DC 5 suspected of being *Aspergillus niger*. The results of the phytochemical screening showed that the DC 2 isolate was positive for flavonoids, tannins, polyphenols and negative for saponins and alkaloids, the DC 4 isolate was positive for saponins, tannins, alkaloids, polyphenols and negative for flavonoids, the DC 5 isolate was positive for tannins, alkaloids, polyphenols and negative for flavonoids and saponin. Antibacterial test results found that all isolates found in *Ciplukan* leaves had the potential to inhibit *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* or were bacteriostatic, while isolate DC 1 was an isolate that had no potential as a bacteriocidal against *Klebsiella pneumoniae* and isolate DC 2 had no potential as a bacteriocidal against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords: *Ciplukan* Leaves, Endophytic Fungi, Antibacterial, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan nikmat kesehatan, kekuatan, rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam tak lupa selalu tercurah kepada baginda Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wasallam.

Puji syukur atas segala nikmat Allah Subhanahu wa ta'ala sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul "Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Terapan Farmasi pada Program Studi D.IV Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, masih banyak kekurangan atau kelemahan baik dari segi penyusunan maupun dari pandangan pengetahuan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran, pendapat atau kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.

Proses penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak, terutama kepada Ayahanda **Abdul Malik, S.Pd**, Ibunda **Hartati, S.Pd**, Adik **Annisa Mutmainnah Malik** dan **Muh. Rayhan Malik**, serta seluruh keluarga besar penulis atas segala perhatian, pengorbanan, kasih sayang serta doa restunya yang luar biasa selama ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga. Selanjutnya pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima

kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Alfrida Monica Salasa, S.Si, M.Kes** selaku pembimbing I dan Ibu **Dr. Sesilia R. Pakadang, S.Si, M.Si, Apt.** selaku pembimbing II. Dengan penuh kesabaran dan keikhlasan meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis. Penulis juga ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak **Dr. Drs. Rusli, Sp.FRS., Apt** selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar.
2. Ibu **Ida Adhayanti, S.Si., M.Sc., Apt** selaku Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.
3. Ibu **Santi Sinala, S.Si., M.Si., Apt** selaku Ketua Program Studi D.IV Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.
4. Bapak **Dr. Drs. Rusli, Sp.FRS., Apt** selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan arahan kepada penulis selama proses perkuliahan.
5. Bapak/Ibu Dosen dan Staf di Kampus Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.
6. Teman-teman seperjuangan D.IV Alpra20lam terutama teman-teman yang meneliti di Laboratorim Mikrobiologi yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah menemani, membantu dan membersamai penulis selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu per satu yang turut memberikan bantuan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Semoga semua bantuan dari semua pihak mendapatkan pahala yang sebesar-besarnya dari

Allah SWT, dan hasil penelitian ini dapat menjadi bacaan yang bermanfaat.

Aamiin.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, Mei 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Alifa Amaliah Malik', written in a cursive style.

Alifa Amaliah Malik

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI	iv
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTARCT	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	6
I.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
II.1Tumbuhan Ciplukan	8
II.1.1Morfologi Tumbuhan Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	8
II.1.2Klasifikasi Tumbuhan Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	9
II.1.3Habitat Tumbuhan Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	10
II.1.4Kandungan dan Manfaat Tumbuhan Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	10
II.2 Tumbuhan Sebagai Penghasil Metabolit	11
II.3 Fungi Endofit.....	12
II.4 Fungi Endofit Menghasilkan Metabolit Sekunder	13

II.5 Bahan Antimikroba	14
II.6 Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba.....	16
II.7 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Zat Antimikroba	17
II.8 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	19
II.8.1 Klasifikasi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	19
II.8.2 Morfologi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	20
II.8.3 Deskripsi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	20
II.8.4 Patogenesis <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
II.8.5 Pengobatan <i>Streptococcus pneumoniae</i>	22
II.9 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
II.9.1 Klasifikasi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
II.9.2 Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
II.9.3 Deskripsi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
II.9.4 Patogenesis <i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
II.9.5 Pengobatan <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
III.1 Jenis Penelitian.....	27
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
III.3 Alat dan Bahan Penelitian	27
III.3.1 Alat-alat yang Digunakan.....	27
III.3.2 Bahan-bahan yang Digunakan.....	27
III.4 Prosedur Penelitian.....	28
III.4.1 Sterilisasi Alat.....	28
III.4.2 Pembuatan Media	29
III.4.3 Pengambilan dan Pengolahan Bahan Uji	30
III.4.4 Isolasi dan Pemurnian Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	31
III.4.5 Identifikasi Isolat Fungi Endofit Penghasil Antibakteri	31
III.4.6 Penyiapan Bahan Uji	32
III.4.7 Pengujian Diameter Zona Hambat Ekstrak Etiol Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) Terhadap	

<i>Streptococcus pneumoniae</i> dan <i>Klebsiella pneumoniae</i> dengan Metode Difusi Agar Menggunakan <i>Paper Disk</i>	32
III.4.8 Skrining Fitokimia.....	34
III.5 Pengamatan dan Pengumpulan Data	34
III.6 Pengelolaan dan Analisis Data	36
III.7 Pembahasan dan Kesimpulan.....	36
III.8 Definisi Operasional.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
IV.1 Hasil	38
IV.1.1 Isolasi Fungi Endofit Dari Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	38
IV.1.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit dari Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap <i>Streptococcus pneumoniae</i> dan <i>Klebsiella pneumoniae</i> ...	42
IV.2 Pembahasan	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
V.1 Kesimpulan	66
V.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN.....	75

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil Isolasi Fungi Endofit dari Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	38
4.2	Karakteristik Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis Angulata</i> L.) secara Makroskopik	38
4.3	Karakteristik Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) secara Mikroskopik.	40
4.4	Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam).	42
4.5	Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	43
4.6	Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	44
4.7	Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	45
4.8	Hasil Analisis <i>Mann Whitney</i> Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	46
4.9	Hasil Analisis <i>Mann Whitney</i> Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	47
4.10	Hasil Analisis <i>Mann Whitney</i> Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	48
4.11	Hasil Analisis <i>Mann Whitney</i> Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	49
4.12	Hasil Skrining Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	49

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.1	Tumbuhan Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	10
2.2	Pewarnaan Gram <i>Streptococcus pneumoniae</i>	19
2.3	Pewarnaan Gram <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
1.	Proses Pembersihan dan Penanaman Daun Ciplukan (<i>Physalis Angulata</i> L.)	92
2.	Daun Ciplukan yang Telah Ditanam Pada Media SDA Dihari Ke-5	92
3.	Hasil Pengamatan Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) secara Makroskopik dan Mikroskopik	94
4.	Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	94
5.	Penyiapan Pengujian Aktivitas Antibakteri	95
6.	Diameter Zona Hambat yang Terbentuk	95
7.	Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	97

DAFTAR SINGKATAN

DC 1	: Isolat Warna Hijau Muda Daun Ciplukan
DC 2	: Isolat Warna Hijau Tua Daun Ciplukan
DC 3	: Isolat Warna Abu-abu Daun Ciplukan
DC 4	: Isolat Warna Putih Daun Ciplukan
DC 5	: Isolat Warna Hitam Daun Ciplukan
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
NaOCl	: Natrium Hipoklorit
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
PDB	: <i>Potato Dextrose Agar</i>
SDA	: <i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
MHA	: <i>Muller Hinton Agar</i>

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1** : Skema Kerja Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)
- Lampiran 2** : Skema Kerja Pengujian Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan Metode Difusi Agarv Menggunakan *Paper Disk*
- Lampiran 3** : Perhitungan Data Statistik Menggunakan SPSS
- Lampiran 4** : Dokumentasi Penelitian “Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*”

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang paling sering menjadi masalah kesehatan, terutama penyakit infeksi saluran pernafasan yang disebabkan oleh bakteri menjadi masalah kesehatan di negara berkembang maupun di negara maju (Utami *et al.*, 2021). Infeksi saluran pernafasan salah satunya adalah batuk. Batuk adalah keluhan yang sering dikeluhkan pasien kepada dokter dan merupakan gejala yang paling sering ditemukan pada penyakit saluran pernapasan (Panggalo *et al.*, 2019). Batuk dengan intensitas sering dan dalam waktu lama dapat mengindikasikan adanya suatu gangguan atau penyakit infeksi saluran pernapasan terutama jika disertai dahak. Penyakit dengan gejala batuk berdahak antara lain pneumonia, penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), eksaserbasi akut, bronkitis akut, asma bronkial dan bronkiektasis termasuk *cystic fibrosis* (Pakadang & Salim, 2019).

Pneumonia adalah infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli) yang sebagian besar disebabkan oleh bakteri (Khairani *et al.*, 2022). *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran pernapasan dan termasuk dalam kelompok bakteri patogen (Rini *et al.*, 2021). *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan penyakit seperti pneumonia, otitis media, sinusitis, meningitis, infeksi saluran kemih, dan penyakit saluran

pernapasan lainnya. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri gram negatif yang dapat menginfeksi saluran pernapasan terutama paru-paru, *nasal mucosa atrophy* dan *rhinoscleroma*, selain itu dapat pula menginfeksi saluran kemih. Kedua bakteri ini merupakan penyebab penyakit pneumonia yang menjadi salah satu penyakit infeksi saluran pernafasan yang serius di Indonesia.

Menurut *World Health Organization* (WHO) di Indonesia masuk dalam 10 besar negara dengan kematian akibat pneumonia tertinggi yakni setidaknya 2-3 anak meninggal setiap jam. Angka perkiraan kasus pneumonia atau sasaran balita yang mengalami pneumonia di Indonesia pada tahun 2017 sebesar 965.559 kasus, namun jumlah yang ditemukan sebesar 447.431 kasus (46,34%) (Khairani *et al.*, 2022).

Banyak cara yang digunakan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen salah satunya adalah menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang salah dapat menimbulkan efek samping bagi tubuh seperti terjadinya resistensi. Penanganan dan pengobatan terhadap infeksi bakteri akan sulit diatasi. Oleh karena itu banyak orang yang beralih menggunakan cara tradisional untuk pengobatan infeksi patogen (Rini *et al.*, 2021).

Meskipun berbagai kemajuan dalam bidang teknologi dan ilmu pengetahuan terus berkembang sangat pesat, namun penggunaan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan obat-obatan tradisional oleh masyarakat semakin meningkat dan perkembangannya semakin maju (Harefa, 2020). Salah satu tanaman obat yang sangat sering kita jumpai tapi belum banyak

dimanfaatkan secara luas adalah Ciplukan (*Physallis angulata* L.). Ciplukan ini merupakan tumbuhan herba atau semak semusim, tumbuh di tanah kosong yang tidak terlalu banyak air, pinggir selokan, pinggir kebun, dan pinggir sawah (Gultom *et al.*, 2021).

Menurut Widaryati, (2019) Daun Ciplukan dapat dimanfaatkan sebagai antihiperglikemik, antibakteri, antivirus, imunostimulan dan immunosupresan (imunomodulator), antiinflamasi, antioksidan, analgesik, dan sitotoksik, juga sebagai peluruh air seni (diuretik), menetralkan racun, meredakan batuk, mengaktifkan fungsi kelenjar-kelenjar tubuh dan anti tumor. Menurut Layyina, (2020) Ciplukan mengandung sedikitnya 8 golongan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, steroid, triterpenoid dan monoterpenoid. Secara empiris Daun Ciplukan segar digunakan sebagai obat batuk di Kecamatan Biringere, Kabupaten Sinjai yang dikonsumsi dengan cara direbus selama 3-5 menit kemudian diminum dalam keadaan hangat.

Fungi endofit merupakan fungi yang dapat hidup di dalam tumbuhan, berasosiasi dalam jaringan tumbuhan, dan mempertahankan inangnya terhadap herbivora, serangga, dan patogen melalui hubungan mutualistik. Fungi endofit mampu menghasilkan beberapa senyawa seperti steroid, terpenoid, fenolik, alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antivirus, antifungi (Pakadang *et al.*, 2021). Kemampuan suatu endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman

inangnya sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inang ke dalam fungi endofit (Asri *et al.*, 2021).

Penelitian menggunakan fungi endofit dimana fungi endofit merupakan sumber senyawa baru yang berharga karena hanya membutuhkan sedikit bahan tanaman. Fungi endofit juga pilihan yang sangat efisien karena dapat dibudidayakan dalam jumlah banyak dengan biaya yang minimal dibandingkan menggunakan tanaman (Indrawan & Hendra, 2022). Eksplorasi senyawa bioaktif secara umum dilakukan dengan cara ekstraksi simplisia kering dari tumbuhan, namun metode tersebut memerlukan sampel dalam jumlah yang banyak. Perkembangan metode isolasi senyawa bahan alam saat ini telah banyak menggunakan mikroorganisme non patogen yang hidup pada jaringan tumbuhan dan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya yaitu mikroorganisme endofit (Rosalina *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Choirunnisa & Sutjiatmo, (2018) dimana ekstrak etanol 50% Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) menunjukkan adanya efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif *Klebsiella pneumoniae* dengan konsentrasi hambat minimum 256 µg/mL. Sehingga kemungkinan besar isolat fungi endofit dari Daun Ciplukan juga mempunyai potensi yang sama sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Namun, untuk penelitian mengenai efek antibakteri Tumbuhan Ciplukan terhadap bakteri gram positif *Streptococcus pneumoniae* belum pernah dilakukan. Untuk penelitian mengenai fungi endofit dari Tumbuhan Ciplukan telah dilakukan beberapa kali. Berdasarkan penelitian Mahardhika

et al., (2021) yang meneliti fungi endofit dari bagian akar, batang dan daun Ciplukan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari 10 isolat fungi endofit yang didapatkan, terdapat 4 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut. Penelitian lain oleh Setianah *et al.*, (2021) menggunakan bagian daun Ciplukan didapatkan 8 isolat, kedelapan isolat mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan 2 isolat mampu menghambat *Escherichia coli* dan 2 isolat lainnya mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut.

Berdasarkan pencarian literatur mengenai Tumbuhan Ciplukan, belum ada penelitian sebelumnya yang melakukan isolasi fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini untuk mengisolasi, mengidentifikasi jenis fungi endofit dan menguji aktivitas antibakteri fungi endofit Daun Ciplukan terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah yang perlu diteliti sebagai berikut :

1. Apakah jenis fungi endofit yang dapat diisolasi dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)?
2. Apakah fungi endofit yang diisolasi dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) dapat menghasilkan metabolit sekunder yang teridentifikasi berdasarkan skrining fitokimia?

3. Apakah metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat fungi endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang diuraikan diatas, maka penelitian ini bertujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui jenis fungi endofit yang dapat diisolasi dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.).
2. Untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang teridentifikasi berdasarkan skrining fitokimia.
3. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

I.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang diharapkan peneliti dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Memberikan informasi tentang keberadaan fungi endofit pada Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.).
2. Memperkaya pengetahuan di bidang mikrobiologi khususnya mengenai fungi endofit yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.

3. Menjadi referensi bagi peneliti selanjutnya untuk dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tumbuhan Ciplukan

II.1.1 Morfologi Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.) termasuk family Solanaceae, dimana ada sekitar 453 spesies *Physalis* dan yang sudah dikenal baik ada 100 spesies. Ciplukan ditemukan di daerah tropis dan subtropis, tumbuh sebagai gulma di padang rumput, perkebunan, ladang dan daerah berhutan yang terbuka. Ciplukan mampu tumbuh sampai ketinggian 1.650 mdpl. Perbedaan sifat morfologi Ciplukan berdasarkan ketinggian tempat terlihat pada bentuk pertumbuhan tanaman dan permukaan daun. Pertumbuhan Ciplukan yang ditemukan pada ketinggian 200-400 mdpl tumbuh tegak ke atas sedangkan 600 mdpl terlihat pendek hampir menjalar. Penampilan bentuk tumbuhan dikendalikan oleh sifat genetik tumbuhan dibawah faktor-faktor lingkungan. Daun Ciplukan bentuknya tunggal, menyirip, umumnya berwarna hijau tua pada saat muda dan hijau tua kekuningan atau hijau tua kecoklatan setelah dewasa, jorong (ovalis), ujung meruncing, tepi daun bergerigi tidak teratur atau tidak sama sekali, permukaan atas berambut tipis pada saat muda dan tidak berambut saat dewasa,

dengan panjang daun antara 5-15 cm dan lebar 2-10 cm (Hadiyanti *et al.*, 2018).

Bunga Ciplukan terdapat di ketiak daun, dengan tangkai tegak berwarna keunguan dan dengan ujung bunga yang menggantung. Kelopak bunga terbagi lima, dengan taju yang bersudut tiga dan meruncing. Mahkota bunga menyerupai lonceng, berlekuk lima berwarna kuning muda dengan noda kuning tua dan kecoklatan di leher bagian dalam. Benang sari berwarna kuning pucat dengan kepala sari biru muda. Buah ciplukan terdapat dalam bungkus kelopak yang menggelembung berbentuk telur berujung meruncing berwarna hijau muda kekuningan, dengan rusuk keunguan, dengan panjang sekitar 2-4 cm. Buah di dalamnya berbentuk bulat memanjang berukuran antara 1,5-2 cm dengan warna kekuningan jika masak. Rasa buah Ciplukan manis dan kaya manfaat sebagai herbal (Ratri & Darini, 2016).

II.1.2 Klasifikasi Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Berikut adalah klasifikasi tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.) menurut GBIF, (2023):

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Solonales
Family	: Solanaceae

Genus : *Physalis* L.

Species : *Physalis angulata* L.



Gambar 2.1 Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.)
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

II.1.3 Habitat Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Ciplukan termasuk famili Solanaceace yang memiliki habitat tropis asli Amerika Utara dan Selatan. Spesies ini tumbuh sebagai gulma dan melimpah di daerah padang rumput, perkebunan, ladang sepanjang jalan, di lereng terbuka bahkan di daerah hutan yang terbuka (Wahyunita *et al.*, 2021). Selain di Amerika juga terdapat di Indonesia, kawasan Pasifik, Australia dan Asia (Fadhli *et al.*, 2023).

II.1.4 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Daun Ciplukan mengandung senyawa aktif antara lain fenolik (katekin, katekol, asam galat, asam elagik), alkana, aldehid, alkohol sekunder, asam amino, amina aromatik, dan senyawa halogen glikosida jantung, gula pereduksi, serta steroid sehingga

disarankan digunakan sebagai alternatif herbal untuk berbagai penyakit. Khasiat dari tanaman ini antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, untuk terapi hipertensi dan diabetes yang dikombinasikan dengan tanaman obat lain. Ekstrak etanol Daun Ciplukan dapat meningkatkan aktivitas immunoglobulin M (IgM), sedangkan ekstrak metanol menunjukkan efek hipoglikemik tanpa mempengaruhi kualitas sperma pada tikus jantan. Ekstrak metanol ciplukan memiliki sifat antioksidan tertinggi diikuti ekstrak etil asetat, kloroform dan heksana. Senyawa fenolik pada ekstrak metanol daun ciplukan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat dalam menghambat pertumbuhan sel HeLa dan Hep (Alegantina *et al.*, 2021).

II.2 Tumbuhan Sebagai Penghasil Metabolit

Tumbuhan memiliki dua jenis senyawa metabolit, yaitu metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer digunakan oleh tanaman untuk pertumbuhan, sedangkan metabolit sekunder tidak berperan langsung dalam pertumbuhan tanaman, tetapi diproduksi oleh tanaman dalam jumlah tertentu dalam kondisi cekaman (Angin *et al.*, 2019).

Metabolisme primer memodifikasi dan mensintesis karbohidrat, lemak, protein dan asam nukleat, sedangkan metabolisme sekunder menghasilkan metabolit dengan ukuran relatif kecil, umumnya dengan bobot molekul kurang dari 3000 Da. Kelompok senyawa ini diproduksi dalam jumlah terbatas, tidak terus-menerus dan hanya untuk tujuan

spesifik. Adanya kemampuan tanaman untuk melakukan fotosintesis menyebabkan produk metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman sangat berbeda dari metabolit sekunder yang dihasilkan organisme lainnya. Pada tanaman, senyawa metabolit sekunder memiliki beberapa fungsi, diantaranya sebagai atraktan (menarik organisme lain), pertahanan terhadap patogen, perlindungan dan adaptasi terhadap stress lingkungan, pelindung terhadap sinar ultraviolet, sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain (alelopati) (Dalimunthe *et al.*, 2017).

II.3 Fungi Endofit

Fungi endofit disebut jamur yang tersembunyi pada tanaman, didefinisikan sebagai jamur yang sebagian atau seluruh siklus hidupnya hidup secara alami dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit. Secara harfiah, kata endofit berarti "di dalam tanaman" (endon Gr. = di dalam, phyton = tanaman). Istilah endofit ini pertama kali diperkenalkan oleh de Bary pada tahun 1866. Endofit didefinisikan secara luas mengarah pada organisme yang ditemukan dalam jaringan tanaman hidup. Fungi endofit merupakan mikroorganisme polifiletik yang berkoloni pada jaringan hidup tumbuhan mulai dari akar, batang, daun, bunga, biji dan buah tanpa menimbulkan efek yang merugikan pada tumbuhan inangnya. Interaksi antara fungi endofit dengan tumbuhan inangnya saling bersimbiosis mutualisme, dimana fungi endofit memperoleh nutrisi dari tanaman inang dan tumbuhan inang terlindungi dari patogen penyebab penyakit pada tumbuhan serta meningkatkan ketahanan tanaman terhadap

kekeringan. Fungi endofit juga mempunyai manfaat untuk menjaga ketahanan tumbuhan terhadap faktor stress abiotik seperti peningkatan toleransi kekeringan, gangguan tanaman pada suhu tinggi dan suhu rendah, kondisi lingkungan pH rendah, salinitas tinggi, serta menggambarkan jika ada logam berat di dalam tanah (Novaldi *et al.*, 2018).

II.4 Fungi Endofit Menghasilkan Metabolit Sekunder

Fungi endofit adalah salah satu agen pengendali hayati yang saat ini mulai banyak dikenal oleh masyarakat. Fungi endofit dapat diartikan sebagai simbiosis mutualisme dengan batang, pohon, daun, rumput atau herba sebagai inangnya. Fungi endofit yang tumbuh pada jaringan tumbuhan obat, juga dapat menghasilkan senyawa yang memiliki khasiat sama pada tumbuhan inangnya, dengan jenis senyawa yang sama dan berbeda. Bahkan, senyawa yang dihasilkan fungi endofit seringkali memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas senyawa dari tumbuhan inangnya (Setiawan *et al.*, 2016).

Beberapa mikroba endofit dapat terkandung oleh setiap tanaman tingkat tinggi, yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder atau senyawa biologi yang diduga merupakan akibat dari koevolusi atau transfer genetik oleh tanaman inang ke dalam mikroba endofit. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif misalnya senyawa antibakteri, antifungi, antivirus, antikanker, antimalaria dan sebagainya (Rianto *et al.*, 2018).

Tumbuhan yang ada di muka bumi dapat mengandung kurang lebih satu ataupun lebih mikroba endofit, seperti bakteri atau fungi, oleh karena itu kemungkinan mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah yang sama dengan tanaman aslinya (Suhardi *et al.*, 2023).

II.5 Bahan Antimikroba

Antimikroba adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh jamur dan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil. Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur (Pitoy *et al.*, 2019).

Namun, penggunaan antibiotik memiliki efek samping. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Penggunaan bahan alam sebagai antibiotik diharapkan dapat mengurangi resistensi dan tidak menimbulkan efek samping. Antimikroba adalah senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme. Senyawa tersebut menyebabkan terjadinya denaturasi pada membran sel bakteri, sehingga mempengaruhi difusi senyawa keluar masuk. Akibatnya terjadi lisis pada bakteri tersebut, sehingga menghambat pertumbuhannya (Habibi *et al.*, 2022).

Beberapa sifat yang perlu dimiliki oleh zat antimikroba menurut (Sari *et al.*, 2022) yaitu :

- a. Menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak hospes/inang, yaitu antimikroba dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan mikroba bahkan menghentikan pertumbuhan bakteri/membunuh namun tidak berpengaruh/merusak pada hospes.
- b. Bersifat bakterisida dan bukan bakteristatik, yaitu antimikroba baiknya bersifat bakterisida atau bersifat menghentikan laju pertumbuhan/membunuh mikroba bukan bakteristatik yang hanya menghambat laju pertumbuhan mikroba.
- c. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman atau mikroba, yaitu antimikroba tidak akan menimbulkan kekebalan kepada mikroba sehingga antimikroba tidak dapat digunakan untuk menghentikan pertumbuhan mikroba patogen lagi.
- d. Berspektrum luas, yaitu antimikroba efektif digunakan untuk berbagai spesies bakteri, baik bakteri kokus, basil, dan spiral.
- e. Tidak menimbulkan alergenik atau menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu lama, yaitu antimikroba yang digunakan sebagai obat tidak menimbulkan efek samping kepada pemakai jika digunakan dalam jangka waktu lama.
- f. Zat antimikroba tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eskudat, antimikroba yang berada dalam plasma atau cairan tubuh tetap bersifat aktif dan tidak dalam keadaan berhenti tumbuh atau dormansi.
- g. Zat antimikroba dapat larut dalam air dan stabil, antimikroba dapat larut dan menyatu dalam air.

II.6 Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba

Menurut Widyawati, (2018) berdasarkan beberapa ahli menyebutkan bahwa mekanisme kerja zat antimikroba mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam sel, yaitu:

- a. Antimikroba menghambat metabolisme sel. Untuk bertahan hidup dan melangsungkan kehidupan, mikroba membutuhkan asam folat. Mikroba patogen tidak mendapatkan asam folat dari luar tubuh, sehingga mikroba perlu mensintesis asam folat sendiri. Zat antimikroba akan mengganggu proses pembentukan asam folat, sehingga menghasilkan asam folat yang nonfungsional dan metabolisme dalam sel mikroba akan terganggu.
- b. Antimikroba menghambat sintesis protein. Suatu sel dapat hidup apabila molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam sel dalam keadaan alamiahnya. Terjadinya denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat dari beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi ireversibel komponen sel yang mendukung kehidupan suatu sel.
- c. Antimikroba menghambat sintesis dinding sel. Bakteri dikelilingi oleh struktur kaku seperti dinding sel yang berfungsi untuk melindungi membran protoplasma yang ada dalam sel. Senyawa antimikroba mampu merusak dan mencegah proses sintesis dinding sel, sehingga

akan menyebabkan terbentuknya sel yang peka terhadap tekanan osmotik.

- d. Antimikroba menghambat permeabilitas membran sel. Membran sel berfungsi untuk penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan tempat berlangsungnya pernafasan sel serta aktivitas sel biosintesis tertentu. Beberapa antimikroba dapat merusak salah satu fungsi dari membran sel sehingga dapat menyebabkan gangguan pada kehidupan sel.
- e. Antimikroba merusak asam nukleat dan protein DNA, RNA dan protein memegang peranan penting di dalam proses kehidupan sel. Sehingga gangguan apapun yang terjadi dalam pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dalam mengakibatkan kerusakan secara menyeluruh pada sel.

II.7 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Zat Antimikroba

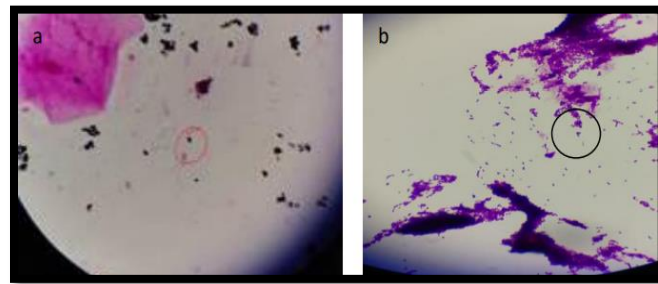
Lingkungan sangat mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa golongan mikroorganisme dapat bertahan terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan baru, ada pula golongan mikroba yang tidak dapat menyesuaikan diri terhadap lingkungannya. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah ketersediaan nutrien, air, suhu, pH, oksigen, adanya zat penghambat pertumbuhan bakteri dan adanya jasad renik lainnya. Faktor yang paling

mempengaruhi pertumbuhannya adalah adanya zat penghambat, karena zat penghambat memiliki fungsi untuk merusak metabolisme bakteri tersebut. Berikut faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri menurut Widyawati, (2018) :

- a. Nutrien, yang dibutuhkan oleh bakteri untuk membentuk energi dan menyusun komponen bakteri. Beberapa nutrien yang dibutuhkan yaitu, sumber karbon, sumber nitrogen, sumber energi dan faktor pertumbuhan yakni mineral dan vitamin.
- b. Ketersediaan air, air merupakan kebutuhan utama oleh semua makhluk untuk bertahan hidup dan berkembang biak. Air merupakan komponen terbesar dalam sel bakteri yaitu sebesar 70-80%, selain itu air juga digunakan sebagai reaktan dalam berbagai reaksi biokimia. Adapaun air yang tidak dapat digunakan oleh bakteri, yaitu adanya ion yang dapat mengikat air dalam larutan (garam dan gula), koloid hidrofilik akan menghambat pertumbuhan bakteri di medianya dan air dalam bentuk kristal.
- c. pH, sangat berpengaruh pada jenis bakteri yang tumbuh. Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada kisaran pH 3-6. Beberapa bakteri mempunyai pH optimum untuk menunjukkan pertumbuhan optimum bakteri, yaitu sekitar pH 6,5-7,5. Bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik pada pH 8,5 kecuali bakteri asam asetat (*Acetobacter suboxydans*).

- d. Suhu, setiap bakteri mempunyai suhu optimum, minimum dan maksimum untuk menunjang pertumbuhannya. Apabila suhu lingkungan terlalu rendah maupun terlalu tinggi, maka aktivitas enzim bakteri akan berhenti atau bahkan terjadi denaturasi enzim.
- e. Ketersediaan oksigen, konsentrasi oksigen di lingkungan mempengaruhi jenis bakteri yang dapat tumbuh.

II.8 *Streptococcus pneumoniae*



Gambar 2.2 Pewarnaan Gram *Streptococcus pneumoniae*
(Hutabarat *et al.*, 2020)

Keterangan : a. Diplococcus, b. Diplococcus lancet (Perbesaran 100x)

II.8.1 Klasifikasi *Streptococcus pneumoniae*

Klasifikasi *Streptococcus pneumoniae* menurut GBIF, (2023)

yaitu :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>

II.8.2 Morfologi *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri kokus gram positif yang pada pewarnaan gram tampak berpasangan (diplokokus), terkadang soliter atau tersusun dalam rantai yang pendek, serta berbentuk “lancet”. Bakteri ini pertama kali diidentifikasi pada akhir tahun 1800 dan awalnya dikenal sebagai penyebab utama pneumonia. Pada media agar darah bakteri ini memiliki aktivitas hemolisis α , koloninya umumnya berukuran kecil, berwarna keabu-abuan, mukoid, tepi koloni rata, dan bagian tengah koloni tampak cekung. Mempunyai karakteristik berupa katalase negatif, bersifat anaerob fakultatif, tumbuh optimal pada lingkungan atmosfer dengan kadar CO₂ 5%, sensitif terhadap optochin, dan larut dalam garam empedu, bersifat fastidious sehingga membutuhkan darah untuk tumbuh. Bakteri ini memiliki sekitar 90 serotipe berdasarkan kapsul polisakaridanya. Kapsul polisakarida ini merupakan salah satu faktor virulensi yang penting. Sebagian besar *Streptococcus pneumoniae* memiliki kapsul dan biasanya bersifat patogenik pada manusia dan yang tidak memiliki kapsul biasanya bersifat non-patogenik (Dwiyana, 2015).

II.8.3 Deskripsi *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae adalah flora normal pada mukosa saluran pernafasan bagian atas. Bakteri ini dapat

mengolonisasi nasofaring bersama dengan bakteri lain. *Streptococcus pneumoniae* yang mengolonisasi nasofaring dapat berpindah ke jaringan dan organ lain sehingga menyebabkan penyakit. Kolonisasinya dapat menyebarkan secara horizontal pada suatu komunitas. Jika salah satu anggota keluarga terjangkit maka pada kondisi tertentu dapat ditransmisikan ke anggota keluarga lainnya (Rohmah *et al.*, 2022).

II.8.4 Patogenesis *Streptococcus pneumoniae*

Infeksi *Streptococcus pneumoniae* diawali dengan masuknya bakteri pneumokokus kedalam sistem pernapasan atas manusia. Kemudian, bakteri patogen akan masuk ke saluran napas bagian bawah dan mengalami kolonisasi setelah dapat melewati hambatan mekanisme pertahanan inang berupa daya tahan mekanik (epitel silia dan mukus), humoral (antibody dan komplemen), dan selular (leukosit polinuklir, makrofag, limfosit dan sitokinnya). Bakteri akan berkolonisasi pada lapisan sel epitel mukosa saluran napas bawah dan membentuk lapisan biofilm yang berfungsi dalam mempertahankan bakteri dari mekanisme pertahanan sistem inum host dan memperpanjang masa hidup patogen. Bakteri patogen kemudian akan menyebar dan melakukan invasi pada organ-organ pernapasan host. Infeksi *Streptococcus pneumoniae* ini menimbulkan gejala seperti demam, batuk kering maupun basah dengan dahak berwarna kuning kehijauan, lemas, mual, muntah,

nyeri ketika menarik napas atau batuk, dan sesak napas (Larasati, 2020).

Pneumonia merupakan akibat terjadinya infeksi ketika mekanisme pertahanan paru mengalami kerusakan atau penurunan kekebalan tubuh. Proses patogenesis pneumonia terkait dengan tiga faktor yaitu keadaan (imunitas) pasien, mikroorganisme yang menyerang pasien dan lingkungan yang berinteraksi satu sama lain. Dalam keadaan sehat, pada paru tidak akan terjadi pertumbuhan mikroorganisme, keadaan ini disebabkan oleh adanya mekanisme pertahanan paru. Adanya bakteri di paru merupakan akibat ketidakseimbangan antara daya tahan tubuh, mikroorganisme dan lingkungan, sehingga mikroorganisme dapat berkembang biak dan berakibat timbulnya penyakit (Sari & Jaya, 2022).

II.8.5 Pengobatan *Streptococcus pneumoniae*

Pengobatan infeksi *Streptococcus pneumoniae* melibatkan penggunaan antibiotik. Permasalahan saat ini adalah meningkatnya resistensi bakteri pada antibiotik, yang membuat pencegahan infeksi bakteri ini menjadi penting. Salah satu cara pencegahan yang paling efektif adalah dengan vaksinasi. Pengembangan vaksin untuk bakteri ini terus mengalami pengembangan hingga kini. Prinsip kerja vaksin dalam mengurangi infeksi menggunakan reaksi antigen-antibodi sehingga memberikan proteksi pada infeksi yang akan datang. Vaksin yang telah digunakan untuk melawan

Streptococcus pneumoniae saat ini adalah Pneumococcal Polysaccharide Vaccine (PPV) 23 valen dan Pneumococcal Conjugates Vaccine (PCV) (Larasati, 2020).

II.9 *Klebsiella pneumoniae*



Gambar 2.3 Pewarnaan Gram *Klebsiella pneumoniae*
(Dimastuti, 2021)

II.9.1 Klasifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Klasifikasi *Klebsiella pneumoniae* menurut GBIF, (2023)

yaitu :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacterales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Spesies	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

II.9.2 Morfologi *Klebsiella pneumoniae*

Salah satu jenis mikroba patogen adalah *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif,

berbentuk batang pendek, memiliki ukuran 0,5-0,5 x 1,2 μ . Bakteri ini memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora, tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas (Iien *et al.*, 2020).

II.9.3 Deskripsi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae pertama kali diteliti dan diidentifikasi oleh bakteriologis Jerman bernama Edwin Klebs (1834-1913). Bakteri ini biasanya terdapat dalam feses dan saluran napas sebanyak 5% pada orang normal. *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri gram negatif, bakteri yang non motil (tidak melakukan pergerakan secara sel), merupakan bakteri fakultatif anaerob, bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa. Bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia. Pneumonia adalah proses infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Pneumonia yang disebabkan dapat berupa pneumonia komunitas (community acquired pneumonia). Bakteri ini memiliki penyebaran yang sangat cepat, terutama di antara orang-orang yang sedang terinfeksi dengan gejala berupa pendarahan dan penebalan lapisan mukosa organ. Bakteri ini juga merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit bronchitis (Elfidasari *et al.*, 2013).

II.9.4 Patogenesis *Klebsiella pneumoniae*

Proses patogenesis pneumonia terkait dengan 3 faktor yaitu keadaan (imunitas) inang, mikroorganisme yang menyerang pasien dan lingkungan yang berinteraksi satu sama lain. Interaksi ini akan menentukan klasifikasi dan bentuk manifestasi dari pneumonia, berat ringannya penyakit, diagnosis empiris, rencana terapi secara empiris serta prognosis dari pasien. Patogenesis pneumonia nosokomial pada prinsipnya sama dengan pneumonia komuniti. Pneumonia terjadi apabila mikroba masuk ke saluran napas bagian bawah.

Ada empat rute masuknya mikroba tersebut ke dalam saluran napas bagian bawah yaitu :

- a. Aspirasi, merupakan rute terbanyak pada kasus-kasus tertentu seperti kasus neurologis dan usia lanjut.
- b. Inhalasi, misalnya kontaminasi pada alat-alat bantu napas yang digunakan pasien.
- c. Hematogenik
- d. Penyebaran langsung pasien yang mempunyai faktor predisposisi terjadi aspirasi mempunyai risiko mengalami pneumonia nosocomial.

Pneumonia terjadi akibat proses infeksi bila patogen yang masuk saluran nafas bagian bawah tersebut mengalami kolonisasi setelah dapat melewati hambatan mekanisme pertahanan inang

berupa daya tahan mekanik (epitel silia dan mucus), humoral (antibodi dan komplemen) dan selular (leukosit, polinuklir, makrofag, limfosit dan sitokinnya). Kolonisasi terjadi akibat adanya berbagai faktor inang dan terapi yang telah dilakukan yaitu adanya penyakit penyerta yang berat, tindakan bedah, pemberian antibiotik, obat-obatan lain dan tindakan invasif pada saluran pernafasan (Keliat *et al.*, 2017).

II.9.5 Pengobatan *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotik adalah obat yang paling sering dipergunakan untuk pengobatan infeksi bakteri, dengan kemajuan teknologi, jumlah dan jenis antibiotik yang bermanfaat secara klinis makin meningkat, sehingga diperlukan ketepatan yang tinggi dalam memilih antibiotik. Dikarenakan meningkatnya resistensi antibiotik terhadap *Klebsiella pneumoniae*, carbapenem merupakan antibiotik pilihan yang efektif untuk infeksi bakteri ini. Salah satu antibiotik berspektrum luas yang termasuk dalam golongan carbapenem adalah meropenem (Soleha & Edwin, 2019).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian bersifat Eksperimen. Eksperimen berupa eksplorasi dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi jenis fungi endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) serta uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

III.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar. Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Maret tahun 2024.

III.3 Alat dan Bahan Penelitian

III.3.1 Alat-alat yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, batang pengaduk, *blank paper disk*, bunsen, cawan petri, cutter, erlenmeyer, *deck glass*, gelas kimia, gelas ukur, gunting, hotplate, inkubator, jarum ose, kapas, korek api, LAF (*Luminar Air Flow*), mikroskop, rotavapor, *obyek glass*, oven, pinset, pisau, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

III.3.2 Bahan-bahan yang Digunakan

a. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 75%, Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.), Natrium Hipoklorit (NaOCl) 5%, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), media *Nutrient Agar* (NA), media *Muller Hinton Agar* (MHA), media *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), kloramfenikol 0,005%, etil asetat (C₄H₈O₂), swab steril, tissue, spiritus, kertas label dan aquadest.

b. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

III.4 Prosedur Penelitian

III.4.1 Sterilisasi Alat

Sebelum disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam untuk peralatan gelas dan tahan panas, peralatan dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir. Sedangkan alat yang tidak tahan panas tinggi dalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atmosfer dan suhu 121°C, dan untuk alat logam didesinfeksi dengan lampu pijar menggunakan lampu spiritus (Pakadang *et al.*, 2021).

III.4.2 Pembuatan Media

a. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA) (Merck)

Untuk membuat media Nutrient Agar (NA), 28 gram media NA ditimbang terlebih dahulu, lalu dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1000 ml (28 gram/1000 mL) dalam erlenmeyer. Kemudian dipanaskan di atas kompor sampai mendidih dan larutan menjadi jernih, lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu media NA yang telah disterilkan dituang ke dalam tabung reaksi untuk pembuatan agar miring NA.

b. Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (Merck)

Disiapkan media Sabouraud Dextrose Agar (PDA) dengan menimbang 16,25 gram yang larut dalam 250 mL aquadest dalam erlenmeyer. Kemudian dididihkan menggunakan kompor hingga media terlarut menghasilkan larutan jernih. Disterilkan pada suhu 121°C menggunakan autoklaf selama 15 menit dan ditambahkan antibiotik kloramfenikol 0,005%.

c. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDB) (Merck)

Disiapkan media Potato Dextrose Broth (PDB) dengan menimbang 6 gram yang larut dalam 250 mL aquadest dalam erlenmeyer. Disterilkan pada suhu 121°C menggunakan autoklaf selama 15 menit.

d. Pembuatan Media Muller Hinton Agar (MHA) (Merck)

Disiapkan media Muller Hinton Agar (MHA) dengan menimbang 6,8 gram yang larut dalam 200 mL aquadest dalam erlenmeyer. Kemudian dididihkan menggunakan kompor hingga media terlarut menghasilkan larutan jernih. Disterilkan pada suhu 121°C menggunakan autoklaf selama 15 menit.

III.4.3 Pengambilan dan Pengolahan Bahan Uji**a. Pengambilan Bahan Uji**

Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) segar yang digunakan berasal dari Kelurahan Biringere, Kecamatan Sinjai Utara, Kabupaten Sinjai, Provinsi Sulawesi Selatan.

b. Pengolahan Bahan Uji

Sebelum dilakukan sterilisasi secara aseptis, Daun Ciplukan terlebih dahulu dicuci dengan air yang mengalir selama 10 menit. Setelah itu direndam dalam alkohol 75% selama 1 menit lalu direndam dalam natrium hipoklorit (NaOCl) 5% selama 5 menit, kemudian direndam lagi dalam alkohol 75% selama 30 detik. Setelah direndam, Daun Ciplukan dikeringkan dalam cawan petri steril lalu dipotong hingga ukuran ± 1 cm (Pakadang *et al.*, 2021).

III.4.4 Isolasi dan Pemurnian Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Daun Ciplukan yang sebelumnya telah dipotong kecil kemudian diinokulasikan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang sebelumnya telah ditambahkan kloramfenikol 0,005% dalam cawan petri. Diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari. Hasil isolat fungi endofit yang telah tumbuh pada media SDA dimurnikan dengan cara menginokulasikan kembali koloni tunggal pada media SDA dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari. Hasil inkubasi ditemukan beberapa jenis kapang murni berdasarkan pengamatan warna dan bentuk pada media SDA. Setiap koloni dengan warna atau bentuk yang berbeda dikultur kembali berulang-ulang hingga diperoleh isolat koloni murni fungi endofit (Pakadang *et al.*, 2021).

III.4.5 Identifikasi Isolat Fungi Endofit Penghasil Antibakteri

Hasil isolat fungi endofit selanjutnya diidentifikasi berdasarkan makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik terdiri atas bentuk dan warna koloni dan mikroskopik meliputi (spora, konidia, bentuk dan ukuran hifa dengan mikroskop). Fungi yang didapat diidentifikasi dengan cara mencocokkan hasil pengamatan dengan pustaka.

Adapun cara untuk mengidentifikasi fungi endofit yaitu media SDA diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose, potongan agar dipindahkan secara aseptik ke atas objek glass,

lalu fungi dari biakan yang telah dimurnikan diambil dengan jarum ose, kemudian sisi agar diinokulasi dengan fungi, kemudian ditutup dengan deck glass. Preparat tersebut ditempatkan pada tissue yang telah diberikan air dan diinkubasi di incubator sekitar 2-3 hari di suhu 25°C. Morfologi fungi (spora, konidia, bentuk dan ukuran hifa) yang dapat terbentuk lalu dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 40x. Fungi yang didapat diidentifikasi dengan cara mencocokkan hasil pengamatan dengan pustaka (Pakadang *et al.*, 2021).

III.4.6 Penyiapan Bahan Uji

Bakteri uji yang telah disiapkan diambil 1 ose biakan murni *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* diinokulasi pada masing-masing media NA miring, kemudian diinkubasi sekitar 1 x 24 jam di suhu 37°C. Hasil peremajaan biakan bakteri yang diperoleh, diambil 1 ose, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan aquadest steril sebanyak 10 ml, lalu dikocok hingga homogen sampai diperoleh tingkat kekeruhan yang setara dengan standar MC Farland 0,5 (Pakadang *et al.*, 2021).

III.4.7 Pengujian Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan Metode Difusi Agar Menggunakan *Paper Disk*

Isolat fungi yang telah dimurnikan, dilanjutkan ke tahap fermentasi untuk di produksi metabolit sekunder yang bersifat

antibakteri. Isolat murni dibuat starter pada cawan petri yang berisi medium SDA, lalu diinkubasi 5-7 hari. Setelah isolat tumbuh di potong berbentuk kotak dan diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media cair PDB dan diinkubasi selama 2-3 minggu. Setelah dilakukan fermentasi selama 3 minggu, hasil fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat dalam corong pisah. Pelarut etil asetat yang bersifat semipolar digunakan dengan maksud untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar dan nonpolar (Pakadang *et al.* 2021).

Selanjutnya ekstrak yang diperoleh digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat fungi endofit menggunakan metode difusi agar. Pekerjaan serupa dilakukan terhadap semua isolat fungi endofit murni yang diperoleh.

Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat fungi endofit ditimbang kemudian disuspensikan ke dalam DMSO 10 ml (konsentrasi 100%). *Paper disk* direndam dalam masing-masing ekstrak selama 30 menit. *Paper disk* diletakkan pada permukaan media MHA yang telah diinokulasikan *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Cawan petri diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam hingga 2x24 jam. Setelah itu, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur.

III.4.8 Skrining Fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak kurang lebih 0,5 g dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% dengan bantuan pengocokan, kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2N. Selanjutnya dipanaskan dan ditetesi pereaksi Mayer, hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan endapan.

b. Flavonoid

Ekstrak kurang lebih 0,5 g dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% dengan bantuan pengocokan, kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan warna jingga sampai merah. Senyawa flavonol ditunjukkan dengan pembentukan warna merah sampai merah padam. Senyawa flavanon ditunjukkan dengan pembentukan warna merah padam sampai merah keunguan.

c. Saponin

Ekstrak kurang lebih 0,5 g dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% dengan bantuan pengocokan. Selanjutnya, ditambahkan air suling 10 ml dengan bantuan pengocokan dan didiamkan selama 20 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan busa.

d. Tannin

Ekstrak kurang lebih 0,5 g dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% dengan bantuan pengocokan, kemudian ditambahkan pereaksi FeCl_3 beberapa tetes. Positif ditunjukkan dengan adanya pembentukan warna biru hingga hijau. (senyawa tannin galat teridentifikasi dengan terbentuknya warna biru kehitaman dan senyawa tannin katekin teridentifikasi dengan warna hijau kehitaman).

e. Polifenol

Ekstrak kurang lebih 0,5 g dilarutkan dalam etanol 70% dengan bantuan pengocokan, kemudian ditambahkan air suling 10 mL dan dipanaskan selama 10 menit biarkan hingga dingin kemudian disaring. Filtrat hasil saringan ditambahkan FeCl_3 beberapa tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan larutan warna ungu hingga biru.

III.5 Pengamatan dan Pengumpulan Data

Pengamatan data yang dilakukan berdasarkan diameter zona hambatan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam hingga 2x24 jam, kemudian diukur diameter zona hambatan yang terbentuk.

III.6 Pengelolaan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat ditabulasi, kemudian dirata-rata, lalu dianalisis secara statistik menggunakan SPSS.

III.7 Pembahasan dan Kesimpulan

Data yang telah didapatkan kemudian dikumpulkan lalu melakukan pembahasan dan ditarik kesimpulan dari penelitian yang telah dilaksanakan.

III.8 Definisi Operasional

1. Tumbuhan Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan tumbuhan herba atau semak semusim yang tumbuh di pinggir sawah daerah Biringere, Kecamatan Sinjai Utara, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan dan masyarakat setempat menyebutnya dengan nama “leppo-leppo”.
2. Isolasi fungi endofit daun ciplukan adalah proses pemisahan dan pemurnian isolat tunggal yang terdapat pada daun ciplukan dengan metode sterilisasi permukaan dan teknik penanaman langsung pada media SDA.
3. Identifikasi fungi endofit daun ciplukan adalah proses mengidentifikasi hasil isolat berdasarkan makroskopik dan mikroskopik kemudian dilakukan penentuan fungi endofit dengan cara mencocokkan spesifikasi mikroskopik dengan pustaka.

4. Metode difusi agar adalah metode yang digunakan untuk uji sensitivitas bakteri. Metode ini dilakukan dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan bakteri disekitar *paper disk* yang mengandung suspensi isolat fungi endofit.
5. Aktivitas antibakteri adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat atau membunuh bakteri yang ditandai dengan adanya pembentukan zona hambat.
6. Zona hambat adalah daerah bening di sekeliling *paper disk* yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, dan kemudian diukur menggunakan jangka sorong.
7. Bakteriostatik adalah keadaan ketika suatu zat atau senyawa dapat menghambat pertumbuhan dan penggandaan sel bakteri dengan menghalangi mekanisme metabolisme sel bakteri, bukan membunuhnya secara langsung.
8. Bakteriosida adalah keadaan ketika suatu zat atau senyawa dapat secara langsung membunuh bakteri dengan mempengaruhi dinding sel, lipid, enzim, atau sintesis protein di dalam sel bakteri serta menghambat pembentukan sel baru dan menyebabkan sel bakteri mati.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil

IV.1.1 Isolasi Fungi Endofit Dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Hasil penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan berhasil ditumbuhkan beberapa isolat fungi endofit yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.1 Hasil Isolasi Fungi Endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Bahan Uji	Jumlah Isolat
Daun Ciplukan	5

(Sumber: Data Primer, 2024)

Tabel 4.2 Karakteristik Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis Angulata* L.) secara Makroskopik

No.	Isolat Daun Ciplukan	Deskripsi
1.	 Isolat DC 1	Koloni berwarna hijau muda, memiliki permukaan yang bertekstur dan kasar seperti berpasir dan pada bagian pinggirnya berwarna putih.
2.	 Isolat DC 2	Koloni berwarna hijau tua dan tumbuh menyebar, pada bagian pinggirnya berwarna putih serta di bagian tengah terdapat kelompok yang tumbuh dengan warna hijau yang lebih muda serta memiliki permukaan halus menyerupai beludru.

3.	 Isolat DC 3	Pada awalnya koloni berwarna putih dan kemudian berubah menjadi abu-abu setelah satu hari dengan permukaan berbulu seperti kapas.
4.	 Isolat DC 4	Koloni berwarna putih bersih permukaan berbulu seperti kapas dan tebal serta tumbuh secara berkelompok.
5.	 Isolat DC 5	Koloni berwarna hitam dan tumbuh menyebar secara berkelompok dengan permukaan kasar menyerupai pasir.

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

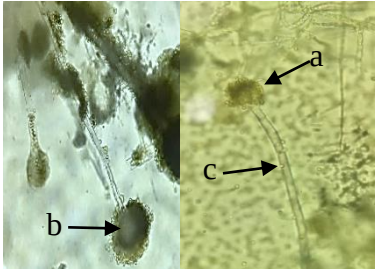
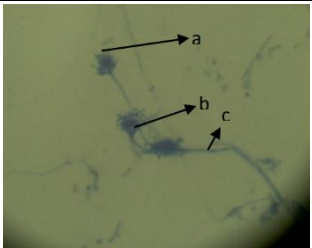
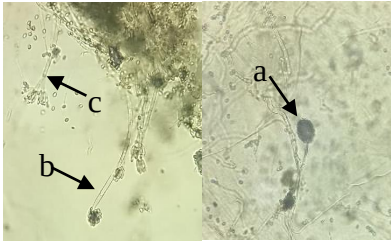
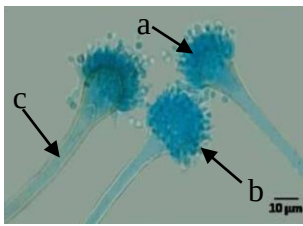
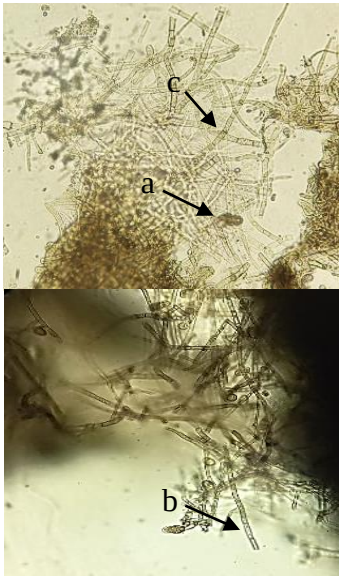
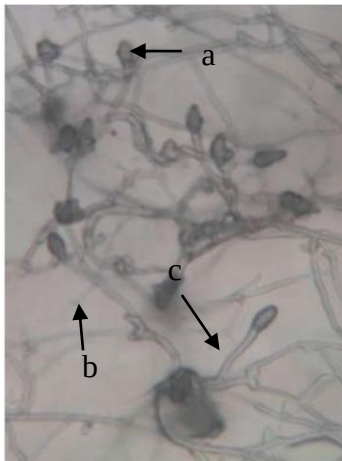
DC 2 : Isolat Hijau Tua

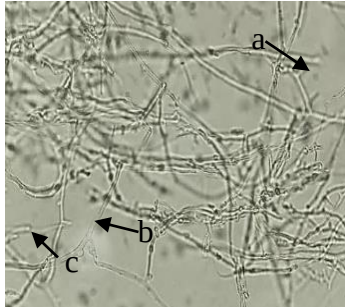
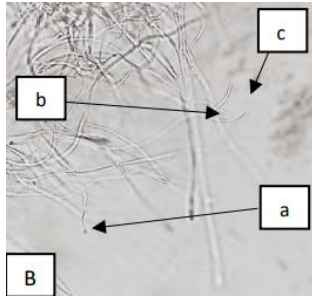
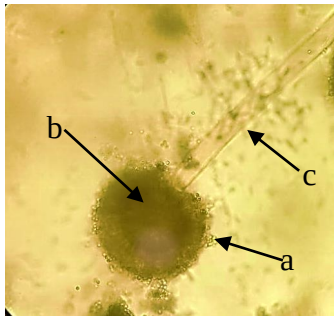
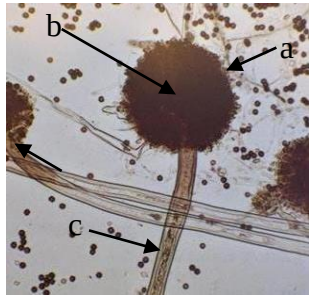
DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.3 Karakteristik Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan
(*Physalis angulata* L.) secara Mikroskopik

Isolat	Hasil Pengamatan	Pustaka (yang diduga)	Deskripsi
DC 1		 <i>Aspergillus flavus</i> (Praja & Yudhana, 2018)	a. Konidia b. Vesikel c. Konidiofor
DC 2		 <i>Aspergillus fumigatus</i> (Lestari et al., 2019)	a. Konidia atas berwarna hijau b. Terdapat spora c. Konidiofor
DC 3		 <i>Colletotrichum</i> sp. (Hanum, 2022)	a. Konidia b. Setae c. Konidiofor

DC 4			a. Konidia b. Konidiofor c. Cabang konidiofor
DC 5			a. Konidia b. Vesikel c. Konidiofor

Cylindrocladium
(Manurung & Kurniatuhadi, 2022)

Aspergillus niger
(Fatur Bayjili *et al.*, 2023)

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

- DC 1 : Isolat Hijau Muda
DC 2 : Isolat Hijau Tua
DC 3 : Isolat Abu-Abu
DC 4 : Isolat Putih
DC 5 : Isolat Hitam

IV.1.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*

Hasil penelitian yang diperoleh berupa zona hambat ekstrak etil asetat isolat fungi endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* selama 1x24 jam dan 2x24 jam pada suhu 37°C sebagai berikut.

Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* (1x24 Jam)

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) Inkubasi 1x24 Jam Pada Setiap Replikasi			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Isolat DC 1	21	19,5	21	61,5	20,5
	Isolat DC 2	18	18,5	17,5	54	18
	Isolat DC 3	21	19	19,5	59,5	19,83
	Isolat DC 4	25	24	25	74	24,66
	Isolat DC 5	17,5	19	19,5	56	18,66
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* (2x24 Jam)

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) Inkubasi 2x24 Jam Pada Setiap Replikasi			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Isolat DC 1	14	17	16	47	15,66
	Isolat DC 2	0	0	0	0	0
	Isolat DC 3	9,5	11,5	12	33	11
	Isolat DC 4	13	10	10,5	33,5	11,16
	Isolat DC 5	8,5	10,5	11,5	30,5	10,16
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda
 DC 2 : Isolat Hijau Tua
 DC 3 : Isolat Abu-Abu
 DC 4 : Isolat Putih
 DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.6 Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* (1x24 Jam)

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) Inkubasi 1x24 Jam Pada Setiap Replikasi			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolat DC 1	19	22,5	20,5	62	20,66
	Isolat DC 2	17,5	19,5	20	57	19
	Isolat DC 3	21,5	20	21	62,5	20,83
	Isolat DC 4	13,5	16,5	16,5	46,5	15,5
	Isolat DC 5	20,5	19,5	19	59	19,66
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda
 DC 2 : Isolat Hijau Tua
 DC 3 : Isolat Abu-Abu
 DC 4 : Isolat Putih
 DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.7 Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* (2x24 Jam)

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) Inkubasi 2x24 Jam Pada Setiap Replikasi			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolat DC 1	0	0	0	0	0
	Isolat DC 2	0	0	0	0	0
	Isolat DC 3	10	12	10	32	10,66
	Isolat DC 4	15,5	16,5	12,5	44,5	14,83
	Isolat DC 5	11	17,5	12	40,5	13,5
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda
 DC 2 : Isolat Hijau Tua
 DC 3 : Isolat Abu-Abu
 DC 4 : Isolat Putih
 DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.8 Hasil Analisis *Mann Whitney* Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* (1x24 Jam)

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Isolat DC 1	3	20,50	0,86	21,00 ^a	19,50	21,00
	Isolat DC 2	3	18,00	0,50	18,00 ^b	17,50	18,50
	Isolat DC 3	3	19,83	1,04	19,50 ^{ac}	19,00	21,00
	Isolat DC 4	3	24,66	0,57	25,00	24,00	25,00
	Isolat DC 5	3	18,66	1,04	19,00 ^{abc}	17,50	19,50

(Sumber: Analisis SPSS Data Primer, 2024)

Superscript ^{abc}: menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.9 Hasil Analisis *Mann Whitney* Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* (2x24 Jam)

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Isolat DC 1	3	15,66	1,52	16,00	14,00	17,00
	Isolat DC 2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Isolat DC 3	3	11,00	1,32	11,50 ^p	9,50	12,00
	Isolat DC 4	3	11,16	1,60	10,50 ^{pq}	10,00	13,00
	Isolat DC 5	3	10,16	1,52	10,50 ^{pq}	8,50	11,50

(Sumber: Analisis SPSS Data Primer, 2024)

Superscript ^{pq}: menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.10 Hasil Analisis *Mann Whitney* Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* (1x24 Jam)

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolat DC 1	3	20,66	1,75	20,50 ^a	19,00	22,50
	Isolat DC 2	3	19,00	1,32	19,50 ^{ab}	17,50	20,00
	Isolat DC 3	3	20,83	0,76	21,00 ^{abc}	20,00	21,50
	Isolat DC 4	3	15,50	1,73	16,50	13,50	16,50
	Isolat DC 5	3	19,66	0,76	19,50 ^{abc}	19,00	20,50

(Sumber: Analisis SPSS Data Primer, 2024)

Superscript ^{abc}: menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.11 Hasil Analisis *Mann Whitney* Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* (2x24 Jam)

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Isolat DC 1	3	0,00	0,00	0,00 ^p	0,00	0,00
	Isolat DC 2	3	0,00	0,00	0,00 ^p	0,00	0,00
	Isolat DC 3	3	10,66	1,15	10,00 ^q	10,00	12,00
	Isolat DC 4	3	14,83	2,08	15,50 ^r	12,50	16,50
	Isolat DC 5	3	13,50	3,50	12,00 ^{qr}	11,00	17,50

(Sumber: Analisis SPSS Data Primer, 2024)

Superscript ^{pqr}: menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*

Keterangan :

DC 1 : Isolat Hijau Muda

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 3 : Isolat Abu-Abu

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

Tabel 4.12 Hasil Skrining Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Uji	Pereaksi	Hasil		
		DC 2	DC 4	DC 5
Alkaloid	HCl 2N (dipanaskan) + Pereaksi Mayer (terbentuk endapan)	-	+	+
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl Pekat (terbentuk warna jingga-merah)	+	-	-

Saponin	Aquadest (dikocok) (terbentuk busa)	-	+	-
Tannin	FeCl ₃ (terbentuk warna hijau-biru kehitaman)	+	+	+
Polifenol	Aquadest (dipanaskan) + FeCl ₃ (terbentuk warna ungu)	+	+	+

(Sumber: Analisis Data Primer, 2024)

Keterangan :

(+) : Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) : Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

DC 2 : Isolat Hijau Tua

DC 4 : Isolat Putih

DC 5 : Isolat Hitam

IV.2 Pembahasan

Metabolit yang berkhasiat secara farmakologis ini ternyata tidak hanya dihasilkan tanaman tetapi juga oleh mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tanaman. Potensi farmakologis yang dimiliki oleh satu jenis tumbuhan sangat mungkin disebabkan karena asosiasi mutualistik dengan mikroorganisme endofit, salah satunya adalah fungi. Fungi endofit adalah fungi yang hidup dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tanpa membahayakan inang itu sendiri (Murdiyah, 2019).

Isolasi merupakan proses mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam atau lingkungan asalnya, dan kemudian ditumbuhkan kembali ke dalam medium buatan, tujuannya ini adalah untuk memisahkan mikroorganisme dari suatu tanaman kemudian ditumbuhkan kembali ke

dalam media yang baru agar memperoleh hasil yang murni (Novaldi *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini dilakukan isolasi fungi endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) untuk mengetahui berapa banyak isolat yang terbentuk atau yang didapatkan, mengidentifikasi isolat fungi endofit yang diperoleh serta mengetahui aktivitas fungi endofit tersebut sebagai senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengamati aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat isolat fungi endofit daun ciplukan yang terbentuk secara langsung pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan metode difusi agar menggunakan *paper disk* dimana komponen antibakteri yang ada pada fungi endofit akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan dari bakteri. Zona bening yang terbentuk pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) menandakan adanya proses penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri. Pengamatan ini dilakukan setelah masa inkubasi 1x24 jam dan inkubasi 2x24 jam pada suhu 37°C. Dilakukan inkubasi 1x24 jam untuk melihat aktivitas isolat fungi endofit dalam menghambat (bakteriostastik), inkubasi 2x24 jam untuk melihat aktivitas isolat fungi endofit dalam membunuh (bakteriosida) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Fungi yang terbentuk dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan fungi endofit karena sebelumnya telah dilakukan sterilisasi permukaan pada bahan uji. Sterilisasi permukaan tersebut bertujuan untuk

menghilangkan mikroorganisme yang terdapat pada permukaan daun ciplukan. Sterilisasi dilakukan diawali dengan pencucian menggunakan air mengalir selama 10 menit, perendaman dengan alkohol 75% selama 1 menit dilanjutkan dengan perendaman dalam natrium hipoklorit 5% selama 5 menit dan direndam kembali dengan alkohol 75% selama 30 detik. Alkohol merupakan salah satu senyawa kimia yang umum digunakan dalam proses sterilisasi, dimana alkohol mampu mengurangi tingkat kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri (Surya & Ismaini, 2021). Natrium hipoklorit banyak digunakan karena sangat efektif membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa hipoklorit mampu membersihkan mikroorganisme yang ikut dalam bahan tanaman, menghilangkan partikel-partikel tanah, debu dan lain-lain (Asni Setiani *et al.*, 2018). Setelah melalui proses sterilisasi daun ciplukan kemudian diinokulasi pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 25°C dan diperoleh fungi endofit yang tumbuh sebanyak 5 isolat murni dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.).

Pada isolat DC 1 (Hijau Muda) diduga sebagai *Aspergillus flavus* yang memiliki penampakan makroskopik koloninya berwarna hijau muda dengan permukaan yang bertekstur dan kasar seperti berpasir dan dipinggirnya dikelilingi warna putih. Secara mikroskopiknya memiliki ciri khas yaitu memiliki konidia, konidiofor yang panjang dengan vesikel di terminal, dan konidianya berbentuk oval. Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Praja &

Yudhana, (2018) *Aspergillus flavus* secara makroskopik koloni yang terlihat berwarna hijau kekuningan dan pada bagian bawahnya berwarna kekuningan sampai coklat. Secara mikroskopik konidiofor tampak jelas, tidak berpigmen, kasar, panjangnya kurang dari 1 mm. Kemudian menurut Iien *et al.*, (2020) Jamur *Aspergillus flavus* menghasilkan koloni yang berwarna kuning hijau atau kuning abu-abu hingga kehitaman. Konidiofornya tidak berwarna, kasar, bagian atas agak bulat serta konidia kasar dengan bermacam-macam warna. Penelitian lainnya oleh Lindawati & Rini, (2019) koloni *Aspergillus flavus* berwarna hijau dan permukaan media memiliki tekstur *powdery* atau biasa disebut pasir, secara mikroskopik vesikula berbentuk bulat dan konidia berbentuk bulat.

Pada isolat DC 2 (Hijau Tua) diduga sebagai *Aspergillus fumigatus* yang memiliki penampakan makroskopik koloni berwarna hijau tua, pada bagian pinggirannya berwarna putih dan bagian tengah terdapat kelompok yang tumbuh dengan warna hijau yang lebih muda serta memiliki permukaan halus menyerupai beludru. Secara mikroskopik yaitu konidia berbentuk bulat, serta konidiospora yang panjang dan tidak bersekat. Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopiknya sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari *et al.*, (2019) *Aspergillus fumigatus* koloninya muncul sebagai filamen putih kemudian berubah warna hijau tua atau hijau gelap dengan pinggirannya putih dan permukaan bawah koloni berwarna kekuningan sampai coklat, permukaan koloni seperti beludru (*velvety*). Pengamatan secara mikroskopik memperlihatkan adanya sporangium yang membentuk

glanula, berwarna hitam kelabu dan memiliki hifa yang bersekat. Penelitian oleh Lisu *et al.*, (2023) *Aspergillus fumigatus* memiliki konidia bulat berwarna hijau tua, dengan konidiofor yang panjang serta memiliki sporangium. Penelitian lainnya oleh Urip *et al.*, (2021) dimana secara makroskopik jamur *Aspergillus fumigatus* ditandai dengan koloni jamur yang berwarna hijau tua dengan pinggiran berwarna putih, dan berbentuk bulat dengan tepian koloni rata serta permukaan halus, tekstur dari jamur seperti beludru.

Pada isolat DC 3 (Abu-abu) diduga sebagai *Colletotrichum* sp. yang memiliki tampilan makroskopik koloni berwarna abu-abu muda. Awalnya koloni berwarna putih dan kemudian berubah menjadi abu-abu setelah satu hari dengan permukaan berbulu seperti kapas. Secara mikroskopiknya memiliki konidia yang berbentuk agak lonjong dan besar, memiliki konidiofor yang bersekat dan tidak bercabang serta setae yang terdapat di ujung konidiofor. Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopiknya sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanum, (2022) *Colletotrichum* sp. memiliki koloni berwarna abu-abu tua dengan conidial mass berwarna abu-abu. Isolat berbentuk bulat dengan tepi koloni tidak teratur dan memiliki tenunan hifa yang tebal menyerupai wol. Pengamatan mikroskopiknya memiliki vesikel, konidiofor, setae dan konidia. Konidia yang dihasilkan *hyaline* dan berbentuk semi bulat ke silindris. Penelitian oleh Sudirga, (2016) jamur *Colletotrichum* sp. menghasilkan banyak miselium, koloni berwarna putih abu-abu, dasar koloni berwarna coklat kehitaman,

secara mikroskopik mempunyai bentuk spora silindris tidak bersepta dengan warna *hyaline* serta miselium jamur bersepta dan bercabang. Penelitian lainnya oleh Sari & Kasiamdari, (2021) *Colletotrichum* sp. secara makroskopik warna abu-abu dengan pinggiran permukaan putih, mengapas dan pinggiran tidak rata, secara mikroskopik yaitu bersepta, tidak ditemukan seta, konidia *hyaline* serta berbentuk silindris dan konidiofornya hialin hingga gelap.

Pada isolat DC 4 (Putih) diduga sebagai *Cylindrocladium* yang memiliki tampilan makroskopik koloni berwarna putih bersih permukaan berbulu seperti kapas dan tebal. Secara mikroskopik yaitu konidia berbentuk bulat kecil, memiliki konidiospora yang panjang dan saling berangkai seperti ranting serta memiliki bagian cabang konidiofor. Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopiknya sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Manurung & Kurniatuhadi, (2022) isolat jamur *Cylindrocladium* berbentuk bulat yang berwarna putih di bagian atas, bawah, dan tepi. Ciri mikroskopik menunjukkan hifa bersekat, spora yang halus, memiliki konidia, konidiofor, dan cabang konidiofor. Penelitian lainnya oleh Dalimunthe *et al.*, (2020) fungi *Cylindrocladium* memiliki karakter makroskopik warna koloni putih, tekstur permukaan halus dan tipe koloni konsentris dan menyebar serta berbentuk seperti kapas. Secara mikroskopiknya sejalan dengan penelitian oleh Tati *et al.*, (2013) yaitu memiliki hifa yang bersekat, hifa membentuk konidiofor, pada ujung hifa terdapat bagian yang menggelembung seperti gada yang disebut vesikel.

Pada isolat DC 5 (Hitam) diduga sebagai *Aspergillus niger* yang memiliki tampilan makroskopik koloni berwarna hitam dan tumbuh menyebar secara berkelompok dengan permukaan kasar menyerupai pasir. Secara mikroskopik memiliki konidia yang berbentuk bulat dan melingkar berbentuk seperti matahari, memiliki vesikel serta konidiofor yang agak panjang. Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopiknya sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fatur Bayjili *et al.*, (2023) secara makroskopik tampak koloni *Aspergillus niger* berwarna hitam kecoklatan. Mikroskopiknya tampak konidia menempel ke permukaan vesikal berwarna hitam dan berbentuk seperti bunga matahari. Secara makroskopik *Aspergillus niger* mempunyai hifa yang tampak dipermukaan vesikel. Penelitian oleh Praja & Yudhana, (2018) secara makroskopik *Aspergillus niger* berwarna koloni hitam dengan pinggiran putih dan permukaan bawah koloni berwarna kekuningan sampai coklat. Secara mikroskopik dicirikan dengan konidia bulat hingga semi bulat dan berwarna coklat, phialid memenuhi seluruh permukaan vesikel dan vesikel berbentuk bulat hingga semi bulat. Penelitian lainnya oleh Lindawati & Rini, (2019) koloni *Aspergillus niger* berwarna hitam dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam, secara mikroskopik memperlihatkan kepala konidia yang menyebar (radiate).

Semua isolat murni yang ditemukan dilanjutkan dengan tahap fermentasi. Tujuannya untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada isolat yang ditemukan. Fermentasi dilakukan dengan cara

isolat murni dibuat starter pada cawan petri yang berisi media SDA, kemudian diinkubasi selama 5-7 hari hingga isolat tumbuh. Setelah isolat tumbuh, lalu dipotong berbentuk kotak dan diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB), lalu diinkubasi selama 2-3 minggu. Hasil fermentasi selama 2-3 minggu kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat dalam corong pisah. Tujuan menggunakan pelarut etil asetat karena pelarut tersebut memiliki sifat semipolar sehingga akan didapatkan komponen yang bersifat polar dan non polar (Pakadang *et al.*, 2021), tujuan lainnya yaitu karena metode yang digunakan yaitu ekstraksi cair-cair yang dimana merupakan proses pemisahan fase cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asal dan larutan pengeksrak sehingga digunakan pelarut etil asetat yang tidak larut terhadap air (Mirwan, 2018). Etil asetat juga memiliki densitas yang lebih rendah dari air sehingga pada proses ekstraksi dengan corong pisah akan terjadi dua lapisan yang terpisah karena pada media cair PDB menggunakan air sebagai pelarutnya. Setelah dilakukan corong pisah menggunakan pelarut etil asetat, maka didapatkan ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat fungi endofit. Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat fungi endofit kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil ekstrak etil asetat masing-masing isolat fungi endofit diletakkan pada cawan porselen yang sebelumnya telah ditimbang. Ekstrak yang didapatkan kemudian diuapkan kembali di atas *waterbath* hingga didapatkan ekstrak etil asetat isolat fungi endofit yang kental. Cawan

yang berisi ekstrak kental tersebut ditimbang kembali. Hasil timbangan cawan porselen kosong dengan cawan yang berisi ekstrak kental dihitung untuk mendapatkan berapa ml/tetes *Dimetil Sulfoksida* (DMSO) yang akan disuspensikan ke ekstrak kental tersebut. Kemudian cawan yang berisi ekstrak kental etil asetat isolat fungi endofit daun ciplukan disuspensikan dengan DMSO (konsentrasi 100%) sesuai perhitungan sebelumnya sesuai dengan banyaknya ekstrak yang diperoleh.

Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. *Paper disk* direndam dalam masing-masing ekstrak selama 30 menit. *Paper disk* kemudian diletakkan pada permukaan media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1x24 jam hingga 2x24 jam. Setelah itu, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menunjukkan area hambatan pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) disekitar *paper disk*.

Hasil pengamatan menunjukkan terbentuknya zona hambat dari ekstrak etil asetat isolat fungi endofit daun ciplukan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* selama 1x24 hingga 2x24 jam. Hasil pengujian terhadap *Streptococcus pneumoniae* inkubasi 1x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat DC 1 sebesar 20,5 mm; isolat DC 2 sebesar 18 mm; isolat DC 3 sebesar 19,83 mm; isolat DC 4 sebesar 24,66 mm; isolat DC 5 sebesar 18,66 mm. Sedangkan hasil

pengujian terhadap *Streptococcus pneumoniae* inkubasi 2x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat DC 1 sebesar 15,66 mm; isolat DC 2 sebesar 0 mm; isolat DC 3 sebesar 11 mm; isolat DC 4 sebesar 11,16 mm; isolat DC 5 sebesar 10,16 mm.

Hasil pengujian terhadap *Klebsiella pneumoniae* inkubasi 1x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat DC 1 sebesar 20,66 mm; isolat DC 2 sebesar 19 mm; isolat DC 3 sebesar 20,83 mm; isolat DC 4 sebesar 15,5 mm; isolat DC 5 sebesar 19,66 mm. Sedangkan hasil pengujian terhadap *Klebsiella pneumoniae* inkubasi 2x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat DC 1 sebesar 0 mm; isolat DC 2 sebesar 0 mm; isolat DC 3 sebesar 10,66 mm; isolat DC 4 sebesar 14,83 mm; isolat DC 5 sebesar 13,5 mm.

Dilakukan uji analisis statistik pada data aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* menggunakan SPSS. Dimana pengujian pertama yang dilakukan yaitu uji normalitas diperoleh bahwa bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam pada isolat DC 2, DC 3 dan DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal, sedangkan pada isolat DC 1 dan DC 4 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal. Pada *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 1, DC 3, DC 4 serta DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal, sedangkan isolat DC 2 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi

normal. Pada bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1, DC 2, DC 3 serta DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal, sedangkan pada isolat DC 4 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal. Pada *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 4 dan DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal, sedangkan isolat DC 1, DC 2 serta DC 3 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal.

Pengujian yang kedua adalah uji homogenitas menunjukkan bahwa hasil homogenitas bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam dan 2x24 jam serta *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data homogen. Sedangkan pada bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam menunjukkan nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak homogen.

Hasil pengujian Normalitas dan Homogenitas menunjukkan terdapat data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan pengujian dengan uji nonparametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam menunjukkan nilai signifikan 0.021 (<0.05) hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak etil asetat isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* selama 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri

ekstrak etil asetat isolat fungi endofit antara satu dengan yang lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri isolat DC 1 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 3 dan DC 5 (nilai signifikan >0.05) dan aktivitas antibakteri isolat DC 2 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 5 (nilai signifikan >0.05) yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* selama 1x24 jam. Sedangkan aktivitas antibakteri isolat DC 4 berbeda nyata dengan isolat DC 1, DC 2, DC 3 dan DC 5 dan aktivitas antibakteri isolat DC 2 berbeda nyata dengan isolat DC 1, DC 3 (nilai signifikan <0.05) yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* selama 1x24 jam.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Streptococcus pneumoniae* selama 2x24 jam menunjukkan nilai signifikan 0.025 (<0.05) hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak etil asetat isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* selama 2x24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri ekstrak etil asetat isolat fungi endofit antara satu dengan yang lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri isolat DC 3 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 4 dan DC 5 (nilai signifikan >0.05) yang berarti tidak ada perbedaan nyata sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* selama 2x24 jam. Sedangkan aktivitas antibakteri isolat DC 1 berbeda nyata dengan isolat DC 2, DC 3, DC 4 dan DC 5 (nilai signifikan <0.05) dan

aktivitas antibakteri isolat DC 2 berbeda nyata dengan isolat DC 3, DC 4 dan DC 5 (nilai signifikan <0.05) yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* selama 2x24 jam.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam menunjukkan nilai signifikan 0.054 (>0.05) hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak etil asetat isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri ekstrak etil asetat isolat fungi endofit yang satu dengan yang lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri isolat DC 1 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 2, DC 3 dan DC 5 (nilai signifikan >0.05) yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* selama 1x24 jam. Sedangkan aktivitas antibakteri isolat DC 4 berbeda nyata dengan isolat DC 1, DC 2, DC 3 dan isolat DC 5 (nilai signifikan <0.05) yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* selama 1x24 jam.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam menunjukkan nilai signifikan 0.014 (<0.05) hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak etil asetat isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* selama 2x24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri ekstrak etil asetat isolat fungi endofit satu

dengan lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri isolat DC 1 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 2 (nilai signifikan >0.05), aktivitas antibakteri isolat DC 3 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 5 (nilai signifikan >0.05) dan aktivitas antibakteri isolat DC 4 tidak berbeda nyata dengan isolat DC 5 (nilai signifikan >0.05) yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* selama 2x24 jam. Sedangkan aktivitas antibakteri pada isolat DC 1 berbeda nyata dengan isolat DC 3, DC 4 dan DC 5 (nilai signifikan <0.05) dan aktivitas antibakteri isolat DC 3 berbeda nyata dengan isolat DC 4 (nilai signifikan <0.05) yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* selama 2x24 jam.

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa semua isolat yang ditemukan pada Daun Ciplukan berpotensi dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* atau bersifat bakteriostatik. Untuk isolat DC 1 (Hijau Muda) merupakan isolat yang tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan isolat DC 2 (Hijau Tua) tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Potensi antibakteri dari isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) dipengaruhi oleh banyaknya kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Kandungan senyawa kimia tersebut dapat dilihat dari hasil skrining fitokimia setiap ekstrak etil asetat isolat fungi endofit daun ciplukan. Daun Ciplukan untuk isolat DC 2 positif mengandung senyawa

flavonoid, tannin, dan polifenol, isolat DC 4 positif mengandung senyawa saponin, tannin, alkaloid dan polifenol, isolat DC 5 positif mengandung senyawa tannin, alkaloid dan polifenol. Untuk isolat DC 1 dan DC 3 tidak dilakukan skrining fitokimia karena ekstrak dari etil asetat yang dihasilkan sedikit. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat Daun Ciplukan yang didapatkan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan dimana hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun ciplukan mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin dan saponin (Gultom *et al.*, 2021). Hasil skrining tersebut juga sejalan dengan penelitian oleh Layyina, (2020) Ciplukan mengandung sedikitnya 8 golongan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, steroid, triterpenoid dan monoterpenoid.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dapat mengganggu fungsi dinding sel bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler dan menghambat motilitas bakteri. Saponin mengandung molekul yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga menurunkan tegangan permukaan sel dan permeabilitas membran menjadi rusak. Gangguan pada tegangan permukaan dinding sel menyebabkan kandungan antibakteri dapat dengan mudah masuk ke dalam sel yang akhirnya sel mengalami kematian, sedangkan untuk permeabilitas sel yang rusak dapat menyebabkan gangguan pada keberlangsungan hidup bakteri. Tannin bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat enzim ekstraseluler bakteri dan mengambil alih substrat yang dibutuhkan dalam pertumbuhan

bakteri. Mekanisme kerja dari senyawa alkaloid yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Lapisan peptidoglikan digunakan sebagai keberlangsungan hidup bakteri pada lingkungan hipotonis. Jika lapisan tersebut mengalami kerusakan maka terjadi kekakuan pada dinding sel bakteri yang menyebabkan kematian sel tersebut (Sadiah *et al.*, 2022). Senyawa polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Anggraini *et al.*, 2019).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan data pengamatan yang diperoleh pada penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditemukan ada 5 isolat murni yaitu isolat DC 1 diduga *Aspergillus flavus*, isolat DC 2 diduga *Aspergillus fumigatus*, isolat DC 3 diduga *Colletotrichum* sp., isolat DC 4 diduga *Cylindrocladium*, isolat DC 5 diduga *Aspergillus niger*.
2. Hasil skrining fitokimia memperlihatkan isolat fungi endofit dari Daun Ciplukan dapat menghasilkan metabolit sekunder dimana isolat DC 2 positif mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan polifenol, isolat DC 4 positif mengandung senyawa saponin, tannin, alkaloid dan polifenol, isolat DC 5 positif mengandung senyawa tannin, alkaloid dan polifenol.
3. Uji aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) memperlihatkan adanya daya hambat pada semua isolat terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* atau bersifat bakteriostatik. Untuk isolat DC 1 (Hijau Muda) merupakan isolat yang tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Klebsiella*

pneumoniae dan isolat DC 2 (Hijau Tua) tidak berpotensi sebagai bakteriosida terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

V.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian di atas perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri isolat fungi endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi serta sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dengan pasti jenis jamur dari tiap isolat dengan melakukan penelitian biokimia murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Alegantina, S., Setyorini, H. A., Oktoberia, I. S., Winarsih, W., & Aini, N. (2021). Profil *Physalis minima* L. dari Berbagai Etnis di 9 (Sembilan) Provinsi Indonesia Secara HPLC dan Kemometrik. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 31(1). <https://doi.org/10.22435/mpk.v31i1.3709>
- Anggraini, W., Nisa, S. C., DA, R. R., & ZA, B. M. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. cantalupensis) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 61–66. <http://repository.uin-malang.ac.id/>
- Angin, Y. P., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M. S., & Nurhayati. (2019). Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder yang Dihasilkan Tanaman pada Cekaman Biotik. 7, 39–47. <https://jurnaltest.uisu.ac.id/index.php/agriland/index>
- Asni Setiani, N., Nurwinda, F., & Astriany, D. (2018). Pengaruh Desinfektan dan Lama Perendaman pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. F.A Zorn) Fosberg). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 6(3), 78–82. <https://garuda.kemdikbud.go.id/>
- Asri, M. I., Sabaruddin, & Fitriana. (2021). Isolasi Fungi Endofit Daun Srikaya (*Annona muricata* L) Sebagai Antioksidan Secara KLT-Autografi. *Journal Microbiology Science*, 1(1), 16–22. <http://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/microbiologyscience>
- Choirunnisa, A., & Sutjiatmo, A. B. (2018). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Cecendet (*Physalis angulata* L.) Dengan Beberapa Antibiotik Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Kartika : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 50. <https://doi.org/10.26874/kjif.v5i2.114>
- Dalimunthe, C. I., Rachmawan, A., Penelitian, B., & Putih, S. (2017). Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Pestisida Nabati Untuk <https://garuda.kemdikbud.go.id/>
- Dalimunthe, P. I. R., Siregar, E. B. M., & Anna, N. (2020). Respon *Cylindrocladium* Sp. Terhadap Fungisida Berbahan Aktif Mancozeb Secara In Vitro. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(3), 104–144. <https://garuda.kemdikbud.go.id/>

- Elfidasari, D., Noriko, N., Mirasaraswati, A., Feroza, A., & Canadianti, S. F. (2013). Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumonia* pada Beberapa jenis Rokok Konsumsi Masyarakat (Vol. 2, Issue 1). <https://jurnal.uai.ac.id/index.php/SST>
- Fadhli, H., Ruska, S. L., Furi, M., Suhery, W. N., Susanti, E., & Nasution, M. R. (2023). Ciplukan (*Physalis angulata* L.): Review Tanaman Liar yang Berpotensi Sebagai Tanaman Obat. *JFIONline | Print ISSN 1412-1107 | e-ISSN 2355-696X*, 15(2), 134–141. <https://doi.org/10.35617/jfionline.v15i2.144>
- Fatur Bayjili, M., Chamzurni, T., & Jauharlina, J. (2023). Pengaruh Kerapatan Tanaman Penaung terhadap Tingkat Serangan Hama Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei*) dan Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* di Perkebunan Kopi Arabika Gayo. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4), 1033–1042. www.jim.usk.ac.id/JFP
- Gultom, E. D., Rambe, R., Paramitha, R., Sylvia, O., & Ginting, B. (2021). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*) (Vol. 1, Issue 1). <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/34625>
- Habibi, A. R., Johannes, E., & Sulfahri. (2022). Potensi Senyawa Bioaktif Bajakah *Spatholobus litoralis* Hassk Sebagai Antimikroba Dengan Cara In-Vitro dan In-Silico. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2/article/view/20455>
- Hadiyanti, N., Supriyadi, & Pardono. (2018). Keragaman Beberapa Tumbuhan Ciplukan (*Physalis* spp.) Di Lereng Gunung Kelud, Jawa Timur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 17(2), 91–223. https://biologyjournal.brin.go.id/index.php/berita_biologi/article/view/3238
- Hanum, S. (2022). Keanekaragaman Kapang Endofit Asal Tanaman Artemisia (*Artemisia annua* L) Program Studi Biologi 2022 M / 1443 H.
- Harefa, D. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Indonesian Journal Of Civil Society*, 2(2), 28–36. <https://doi.org/10.35970/madani.v1i1.233>
- Hutabarat, M. S., Hamid, F., Mutmainna, Latief, N., & Massi, M. N. (2020). Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) dalam Mendeteksi *Streptococcus pneumoniae* Menggunakan Gen Autolysin (LytA) sebagai Faktor Virulensi dari Spesimen Klinis Sputum. In *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* (Vol. 9). <http://eprints.ukmc.ac.id/5013/>

- Ien, H., Zulkifli, L., & Sedijani, P. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L.) Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(2), 219–226. <https://doi.org/10.29303/jbt.v20i2.1790>
- Indrawan, A. N., & Hendra, R. (2022). Uji Antibakteri Dengan Metode Difusi Agar Dari Ekstrak Fungi Endofit *Botryosphaeria rhodina*. <https://repository.unri.ac.id/home>
- Keliat, E. N., Abidin, A., & Lubis, N. (2017). Pneumonia Nosokomial. <https://dupakdosen.usu.ac.id/handle/123456789/63501>
- Khairani, T. N., Fitri, K., Novilla, L., Shufyani, F., & Fiska, L. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. <https://journal-jps.com/index.php/jps/article/view/162/118>
- Klebsiella pneumoniae* (Schroeter, 1886) Trevisan, 1887 in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-09-12.
- Lestari, A. D., Elfrida, & Indriyati. (2019). Identifikasi Jamur Pada Roti yang Dijual di Kota Langsa Berdasarkan Lama Penyimpanan. *Jurnal Jeumpa*, 6(2), 2–3. <https://ejurnalunsam.id/index.php/jempa/article/view/2491>
- Lindawati, S., & Rini, C. S. (2019). Identifikasi *Aspergillus flavus* pada Kue Pia yang Di Jual Di Dusun Warurejo Kabupaten Pasuruan. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 2(2), 56–62. <https://doi.org/10.21070/medicra.v2i2.1618>
- Lisu, M., Hartati, & Sulfiani. (2023). Identifikasi Jamur *Aspergillus* Sp pada Roti Tawar Setelah Melewati Masa Kadaluarsa Selama Tiga Hari di Daerah Antang Kota Makassar. *Jurnal Penelitian Inovatif*, 3(2), 465–470. <https://doi.org/10.54082/jupin.190>
- Mahardhika, W. A., Rukmi, M. G. I., & Pujiyanto, S. (2021). Isolasi Kapang Endofit Dari Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan Potensi Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 4(1), 33–39. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche/article/view/11056>

- Manurung, L. P., & Kurniatuhadi, R. (2022). Inventarisasi Jamur Endofit dari Daun *Avicennia marina* di Mempawah Mangrove Center , Desa Pasir , Kalimantan Barat. *LenteraBio*, 11(3), 378–384. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/15276>
- Mirwan, A. (2018). Keberlakuan Model Hb-Gft Sistem N-Heksana – Mek – Air Pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom Isian. *Konversi*, 2(1), 32. <https://doi.org/10.20527/k.v2i1.126>
- Murdiyah, S. (2019). Fungi Endofit Pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat Di Kawasan Hutan Vergreen Taman Nasional Baluran Dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Parktikum Mata Kuliah Mikologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3(1), 1–10. <http://ejournal.umm.ac.id/index.php/jpbi>
- Novaldi, A. L., Dewi, D. K., Ulpa, L. N., Apriyani, S., Hapida, Y., Yuniar, Habisukan, U. H., Nurokhman, A., & Maretha, D. E. (2018). Isolasi, Identifikasi Molekuler Fungi Endofit Serta Potensinya Sebagai Sumber Bahan Baku. <https://proceedings.radenfatah.ac.id/index.php/semnaspbio/article/view/91>
- Pakadang, S. R., Marsus, I., & Ihsanawati. (2021). Antibacterial Activity of Endophytic Fungus Isolates of Mangrove Fruit (*Sonneratia alba*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Jurnal Info Kesehatan*, 19(1), 55–63. <https://doi.org/10.31965/infokes.Vol19Iss1>
- Pakadang, S. R., & Salim, H. (2019). Kombinasi Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) dan Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Sebagai Antibakteri *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia* Penyebab Batuk. *Media Farmasi*, 15(1), 1. <https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.779>
- Panggalo, J. T., Porotu'o, J., & Buntuan, V. (2019). Identifikasi Bakteri Aerob Pada Penderita Batuk Berdahak Di Poliklinik Interna Blu Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 1(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.1.1.2013.4572>
- Physalis angulata* L. in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-09-12.
- Pitoy, N. A., Yudistira, A., & Wewengkang, D. (2019). Uji Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi *Tunikata Didemnum molle* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, DAN *Candida albicans* Yang Dikoleksi Di Selat Lembeh Bitung (Vol. 8). <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/29292>

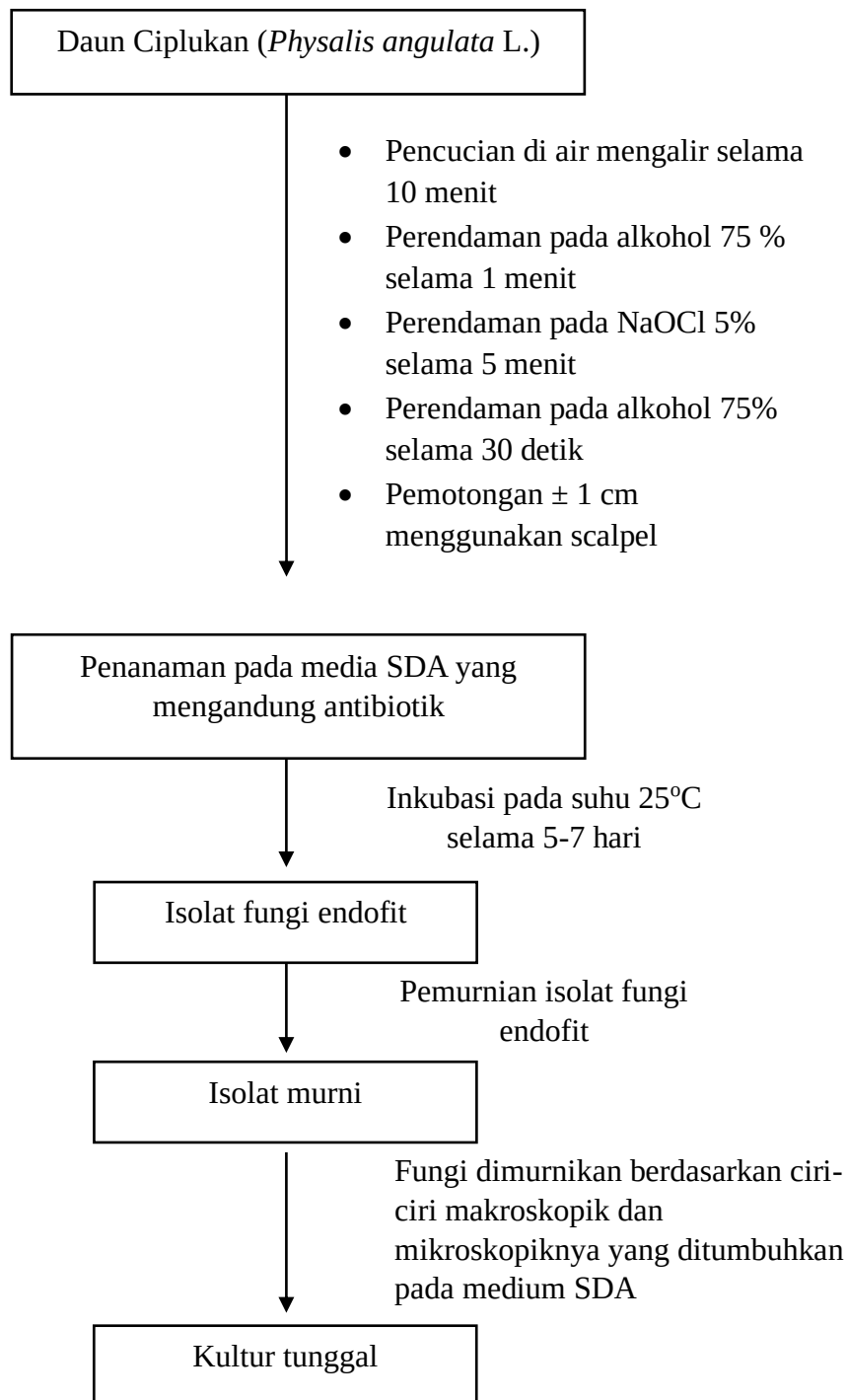
- Praja, R. N., & Yudhana, A. (2018). Isolasi Dan Identifikasi *Aspergillus* Spp pada Paru-Paru Ayam Kampung Yang Dijual di Pasar Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(1), 6. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol1.iss1.2017.6-11>
- Ratri, W. S., & Darini, M. T. (2016). Peluang Ekonomi Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L) Sebagai Abate Alami (Vol. 2, Issue 128). <https://jurnal.ustjogja.ac.id/index.php/sciencetech/>
- Rianto, A., Isrul, M., Anggarini, S., & Saleh, A. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(2). <https://www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi/index.php/jmpi/article/view/34>
- Rini, C. S., Prakoso, Y. A., & Kholifah, D. amanatul. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak Buah Pare (*Momordica Charantia*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pneumoniae* dan *Klebsiella Pneumoniae*. In *Jl. Dukuh Kupang XXV* (Vol. 54). <https://journal.polbangtanyoma.ac.id/pros2021yoma/article/view/645>
- Rohmah, J., Rini, C. S., Asri, N. I. N., & Krisdianti, R. (2022). Antibacterial Activity of Rhizome Extracts of *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoeex Sm. Against *Streptococcus pneumoniae*. <http://eprints.umsida.ac.id/10879/>
- Rosalina, R., Ningrum, R. S., & Lukis, P. A. (2018). Aktifitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Mangga Podang (*Mangifera indica* L.) Asal Kabupaten Kediri Jawa Timur. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*, 35. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2018.35.3.757>
- Sadih, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128. <https://doi.org/10.22146/jsv.58745>
- Sari, D. P., & Jaya, E. P. (2022). Pengetahuan Masyarakat Terhadap Penyakit Pneumonia. <https://journal.uta45jakarta.ac.id/index.php/PAJ/index>
- Sari, N. K. Y., Widiastuti, N. K., & Wiradana, P. A. (2022). Potensi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade) sebagai Antimikroba Resisten (Vol. 5, Issue 2022). <https://jurnal.undhirabali.ac.id/index.php/sintesa/index>
- Sari, N., & Kasiamdari, R. S. (2021). Identifikasi dan Uji Patogenisitas *Colletotrichum* spp. dari Cabai Merah (*Capsicum annum*): Kasus di Kricaan, Magelang, Jawa Tengah. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(2), 243–250. <https://doi.org/10.18343/jipi.26.2.243>

- Setianah, H., Nugraheni, I. A., & Wibowo, D. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Asal Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *JHeS (Journal of Health Studies)*, 5(1), 50–61. <https://doi.org/10.31101/jhes.1485>
- Setiawan, M. A., Hasnawati, Sulistia, & Sulistia, L. (2016). Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(1), 14–18. <http://jsfkonline.org>
- Soleha, T. U., & Edwin, G. W. P. (2019). Pola Resistensi Cephalosporin Generasi III Dan Meropenem pada Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* di Laboratorium Kesehatan Daerah Lampung Tahun 2017. In *JK Unila |* (Vol. 3). <https://digilib.unila.ac.id/>
- Streptococcus pneumoniae* A in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-09-12.
- Sudirga, S. K. (2016). Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum* spp. Isolat PCS Penyebab Penyakit Antarkanosa Pada Buah Cabai Besar (*Capsicum annum* L.) di Bali. *Jurnal Metamorfosa*, 108(3), 400–405. <https://doi.org/10.1017/S0007485317000906>
- Suhardi, J. A., Pakadang, S. R., Dewi, S. T. R., Ratnah, S., Karim, D., & Salasa, A. M. (2023). Isolasi, Indentifikasi Dan Aktivitas Antibakteri Dari Fungi Endofit Daun Miana Terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*. 19(1). <https://doi.org/10.32382/mf.v19i1.3244>
- Tati, S., Kurniaty, R. (2013). Inventarisasi penyakit Daun Pada Bibit Di Stasiun Penelitian Nagrak. *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*, 1(1), 51–59. <http://ejournal.forda-mof.org/ejournal-litbang./index.php/BPTPTH/index>
- Surya, M. I., & Ismaini, L. (2021). Perbandingan Metode Sterilisasi Untuk Perbanyak *Rubus rosifolius* Secara in Vitro. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 14(1), 127–137. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v14i1.16325>
- Urip, Jiwintarum, Y., & Gandi, N. L. P. G. (2021). Studi Jamur *Aspergillus fumigatus* di Pasar Cakranegara Kota Mataram Penyebab Penyakit Aspergillosis Menggunakan Media Pertumbuhan Potato Dextrose Agar. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2), 631. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v9i2.4560>

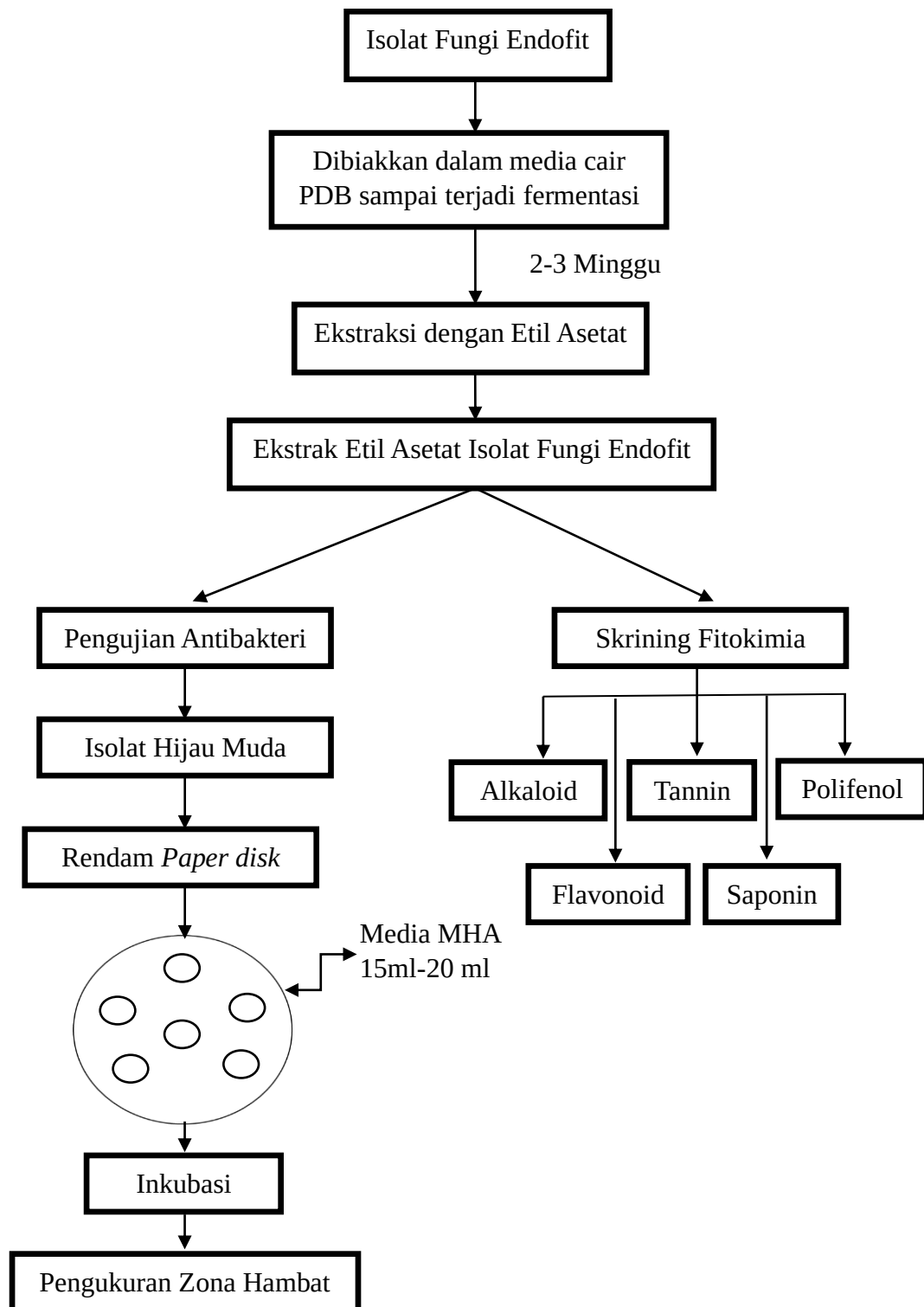
- Utami, B. C., Nyoman Sri Yuliani, N., & Klarita Furtuna, D. (2021). Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Filtrat Aquadest Umbi Bawang Suna (*Allium schoenoprasum*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram KIRBY-BAUER. In *Herb-Medicine Journal*.
<https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/HMJ/article/view/8812>
- Wahyunita, N., Herliana, O., Fauzi, A., & Widarawati, R. (2021). Karakter Fisiologi dan Hasil dari Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata*) Pada Perlakuan Pemupukan Fosfat dan Mikoriza. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(3), 459–467. <https://doi.org/10.18343/jipi.26.3.459>
- Widaryati, R. (2019). Pengaruh Penambahan Tepung Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L) yang Difermentasi dengan Em4 pada Pakan untuk Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis nilotius*). *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*, 8(2). <https://unkripjournal.com/index.php/JIHT/index>
- Widyawati, A. A. (2018). Uji Daya Antimikroba Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun dan Buah *Tamarindus Indica* terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Universitas Muhammadiyah Malang*, 11–39.

LAMPIRAN

Lampiran 1 : Skema Kerja Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)



Lampiran 2 : Skema Kerja Pengujian Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan Metode Difusi Agar Menggunakan *Paper Disk*



Lampiran 3: Perhitungan Data Statistik Menggunakan SPSS

3.1 Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Isolat Daun Ciplukan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	.385	3	.	.750	3	.000
	DC 2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	DC 3	.292	3	.	.923	3	.463
	DC 4	.385	3	.	.750	3	.000
	DC 5	.292	3	.	.923	3	.463
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	.253	3	.	.964	3	.637
	DC 2	.	3	.	.	3	.
	DC 3	.314	3	.	.893	3	.363
	DC 4	.328	3	.	.871	3	.298
	DC 5	.253	3	.	.964	3	.637
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	.204	3	.	.993	3	.843
	DC 2	.314	3	.	.893	3	.363
	DC 3	.253	3	.	.964	3	.637
	DC 4	.385	3	.	.750	3	.000
	DC 5	.253	3	.	.964	3	.637
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	.	3	.	.	3	.
	DC 2	.	3	.	.	3	.
	DC 3	.385	3	.	.750	3	.000
	DC 4	.292	3	.	.923	3	.463
	DC 5	.333	3	.	.862	3	.274
a. Lilliefors Significance Correction							

Berdasarkan hasil analisis normalitas di atas, didapatkan hasil yaitu pada bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 2, DC 3 dan DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal. Sedangkan pada isolat DC 1 dan DC 4 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal. Pada *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 1, DC 3, DC 4 serta DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal. Sedangkan isolat DC 2 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal.

Pada bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1, DC 2, DC 3 serta DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal. Sedangkan pada isolat DC 4 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal. Pada *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 4 dan DC 5 memiliki nilai signifikan >0.05 yang artinya data berdistribusi normal.

Sedangkan isolat DC 1, DC 2 serta DC 3 memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak berdistribusi normal.

3.2 Uji Homogenitas

Oneway

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Based on Mean	1.100	4	10	.408
	Based on Median	.179	4	10	.944
	Based on Median and with adjusted df	.179	4	8.000	.943
	Based on trimmed mean	.974	4	10	.464
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Based on Mean	2.440	4	10	.115
	Based on Median	.586	4	10	.680
	Based on Median and with adjusted df	.586	4	7.492	.683
	Based on trimmed mean	2.233	4	10	.138
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Based on Mean	1.200	4	10	.369
	Based on Median	.235	4	10	.912
	Based on Median and with adjusted df	.235	4	5.598	.908
	Based on trimmed mean	1.087	4	10	.414
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Based on Mean	7.848	4	10	.004
	Based on Median	1.054	4	10	.427
	Based on Median and with adjusted df	1.054	4	3.710	.486
	Based on trimmed mean	6.785	4	10	.007

Berdasarkan hasil uji homogenitas di atas, menunjukkan bahwa nilai signifikan dari bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam dan 2x24 jam serta *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam >0.05 yang artinya data homogen. Sedangkan pada bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam memiliki nilai signifikan <0.05 yang artinya data tidak homogen.

3.3 Uji Kruskal-Wallis

Ranks			
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	10.00
	DC 2	3	2.83
	DC 3	3	8.17
	DC 4	3	14.00
	DC 5	3	5.00
	Total	15	
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	14.00
	DC 2	3	2.00
	DC 3	3	8.50
	DC 4	3	8.50
	DC 5	3	7.00
	Total	15	
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	10.67
	DC 2	3	7.00
	DC 3	3	12.17
	DC 4	3	2.00
	DC 5	3	8.17
	Total	15	
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	3.50
	DC 2	3	3.50
	DC 3	3	8.50
	DC 4	3	13.00
	DC 5	3	11.50
	Total	15	

Test Statistics ^{a,b}				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Kruskal-Wallis H	11.586	11.144	9.308	12.528
df	4	4	4	4
Asymp. Sig.	.021	.025	.054	.014
a. Kruskal Wallis Test				
b. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				

Dikarenakan ada data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji nonparamaterik *Kruskal Wallis* dan diperoleh nilai signifikan <0.05 untuk bakteri uji *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam dan 2x24 jam serta bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada

bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam memiliki nilai signifikan >0.05 berarti tidak ada perbedaan nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3.4 Uji Mann-Whitney

NPART TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(1
2)/MISSING ANALYSIS.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC 2	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC 2	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	4.33	13.00
	DC 2	3	2.67	8.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	3.50	10.50
	DC 2	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	.000	2.000	4.500
Wilcoxon W	6.000	6.000	8.000	10.500
Z	-1.993	-2.087	-1.091	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	.037	.275	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.100 ^b	.400 ^b	1.000 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
 Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(1
 3)/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	4.17	12.50
	DC 3	3	2.83	8.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC 3	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	3.33	10.00
	DC 3	3	3.67	11.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	2.00	6.00
	DC 3	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	2.500	.000	4.000	.000
Wilcoxon W	8.500	6.000	10.000	6.000
Z	-.943	-1.964	-.218	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.346	.050	.827	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 ^b	.100 ^b	1.000 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
 Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(1
 4)/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC 4	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC 4	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	.000	.000	.000
Wilcoxon W	6.000	6.000	6.000	6.000
Z	-2.023	-1.964	-1.993	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043	.050	.046	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
 Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(1 5)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	4.83	14.50
	DC5	3	2.17	6.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	5.00	15.00
	DC5	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 1	3	4.00	12.00
	DC5	3	3.00	9.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 1	3	2.00	6.00
	DC5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.500	.000	3.000	.000
Wilcoxon W	6.500	6.000	9.000	6.000
Z	-1.798	-1.964	-.674	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.072	.050	.500	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.100 ^b	.700 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
 Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(2 3)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 3	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 3	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	2.17	6.50
	DC 3	3	4.83	14.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 3	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	.000	.500	.000
Wilcoxon W	6.000	6.000	6.500	6.000
Z	-1.964	-2.087	-1.771	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050	.037	.077	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(2 4)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	5.00	15.00
	DC 4	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	.000	.000	.000
Wilcoxon W	6.000	6.000	6.000	6.000
Z	-1.993	-2.087	-1.993	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	.037	.046	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(2 5)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	2.83	8.50
	DC 5	3	4.17	12.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 5	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 2	3	3.17	9.50
	DC 5	3	3.83	11.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 2	3	2.00	6.00
	DC 5	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	2.500	.000	3.500	.000
Wilcoxon W	8.500	6.000	9.500	6.000
Z	-.886	-2.087	-.443	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.376	.037	.658	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 ^b	.100 ^b	.700 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(3 4)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 3	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 3	3	3.33	10.00
	DC 4	3	3.67	11.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 3	3	5.00	15.00
	DC 4	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 3	3	2.00	6.00
	DC 4	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	4.000	.000	.000
Wilcoxon W	6.000	10.000	6.000	6.000
Z	-1.993	-.218	-1.993	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	.827	.046	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	1.000 ^b	.100 ^b	.100 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(3 5)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 3	3	4.33	13.00
	DC 5	3	2.67	8.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 3	3	4.17	12.50
	DC 5	3	2.83	8.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 3	3	4.67	14.00
	DC 5	3	2.33	7.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 3	3	2.50	7.50
	DC 5	3	4.50	13.50
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	2.000	2.500	1.000	1.500
Wilcoxon W	8.000	8.500	7.000	7.500
Z	-1.124	-.886	-1.528	-1.348
Asymp. Sig. (2-tailed)	.261	.376	.127	.178
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 ^b	.400 ^b	.200 ^b	.200 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

NPAR TESTS

/M-W= Streptococcus pneumoniae 1x24jam Streptococcus pneumoniae 2x24jam
 Klebsiella pneumoniae 1x24jam Klebsiella pneumoniae 2x24jam BY perlakuan(4 5)

/MISSING ANALYSIS.

Ranks				
	Isolat Daun Ciplukan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 4	3	5.00	15.00
	DC 5	3	2.00	6.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 4	3	3.83	11.50
	DC 5	3	3.17	9.50
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	DC 4	3	2.00	6.00
	DC 5	3	5.00	15.00
	Total	6		
Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)	DC 4	3	4.00	12.00
	DC 5	3	3.00	9.00
	Total	6		

Test Statistics ^a				
	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)	Zona hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)
Mann-Whitney U	.000	3.500	.000	3.000
Wilcoxon W	6.000	9.500	6.000	9.000
Z	-1.993	-.443	-1.993	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	.658	.046	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b	.700 ^b	.100 ^b	.700 ^b
a. Grouping Variable: Isolat Daun Ciplukan				
b. Not corrected for ties.				

3.4.1 Mann-Whitney Test Zona Hambat Bakteri Uji *Streptococcus pneumoniae* selama 1x24 Jam dan 2x24 Jam

	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1x24 Jam)					<i>Streptococcus pneumoniae</i> (2x24 Jam)				
	DC 1	DC 2	DC 3	DC 4	DC 5	DC 1	DC 2	DC 3	DC 4	DC 5
DC 1	-	0.046	0.346 (ns)	0.043	0.072 (ns)	-	0.037	0.050	0.050	0.050
DC 2	0.046	-	0.050	0.046	0.376 (ns)	0.037	-	0.037	0.037	0.037
DC 3	0.346 (ns)	0.050	-	0.046	0.261 (ns)	0.050	0.037	-	0.827 (ns)	0.376 (ns)
DC 4	0.043	0.046	0.046	-	0.046	0.050	0.037	0.827 (ns)	-	0.658 (ns)
DC 5	0.072 (ns)	0.376 (ns)	0.261 (ns)	0.046	-	0.050	0.037	0.376 (ns)	0.658 (ns)	-

Berdasarkan analisis uji Mann-Whitney yang telah dilakukan diperoleh nilai sig >0.05 pada pengujian *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 3 dan DC 5, isolat DC 2 dengan isolat DC 5, isolat DC 3 dengan isolat DC 5 yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam. Pada pengujian *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 3 dengan isolat DC 4 dan DC 5, isolat DC 4 dengan isolat DC 5 yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam.

Sedangkan pada pengujian lainnya diperoleh nilai sig <0.05 *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 2 dan DC 4, isolat DC 2 dengan isolat DC 3 dan DC 4, isolat DC 3 dengan isolat DC 4 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* 1x24 jam. Pada *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 2, DC 3, DC 4 dan DC 5, isolat DC 2 dengan isolat DC 3, DC 4 dan DC 5 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* 2x24 jam.

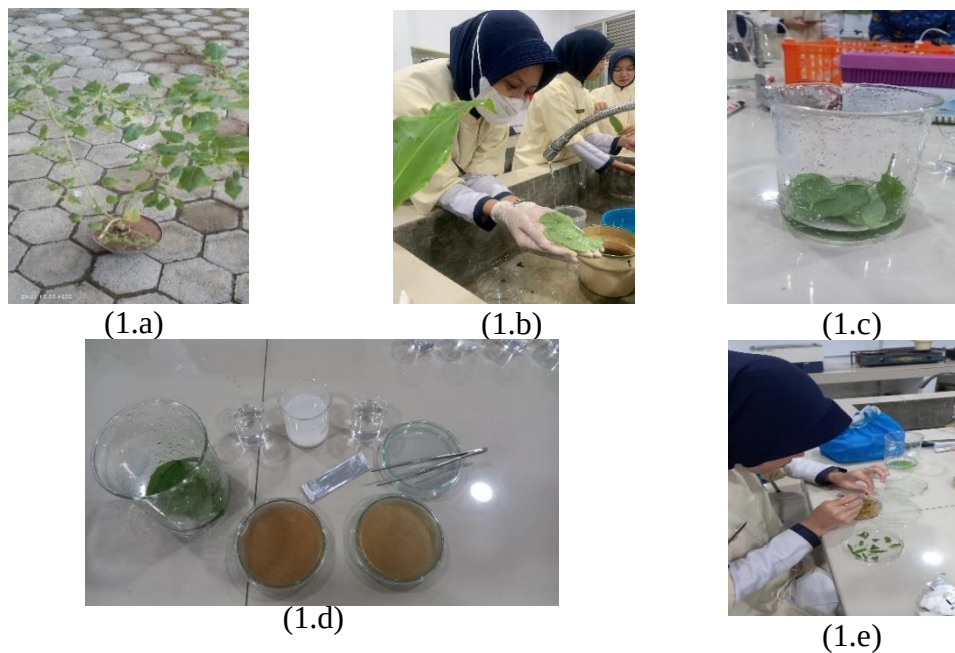
3.4.2 Mann-Whitney Test Zona Hambat Bakteri Uji *Klebsiella pneumoniae* Selama 1x24 Jam dan 2x24 Jam

	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1x24 Jam)					<i>Klebsiella pneumoniae</i> (2x24 Jam)				
	DC 1	DC 2	DC 3	DC 4	DC 5	DC 1	DC 2	DC 3	DC 4	DC 5
DC 1	-	0.275 (ns)	0.827 (ns)	0.046	0.500 (ns)	-	1.000 (ns)	0.034	0.037	0.037
DC 2	0.275 (ns)	-	0.077 (ns)	0.046	0.658 (ns)	1.000 (ns)	-	0.034	0.037	0.037
DC 3	0.827 (ns)	0.077 (ns)	-	0.046	0.127 (ns)	0.034	0.034	-	0.046	0.178 (ns)
DC 4	0.046	0.046	0.046	-	0.046	0.037	0.037	0.046	-	0.513 (ns)
DC 5	0.500 (ns)	0.658 (ns)	0.127 (ns)	0.046	-	0.037	0.037	0.178 (ns)	0.513 (ns)	-

Berdasarkan analisis uji *Mann-Whitney* yang telah dilakukan diperoleh nilai sig >0.05 pada pengujian *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 2, DC 3, dan DC 5, isolat DC 2 dengan isolat DC 3 dan DC 5, isolat DC 3 dengan isolat DC 5 yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam. Pada *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 1 sama dengan isolat DC 2, isolat DC 3 dengan isolat DC 5, isolat DC 4 dengan isolat DC 5, yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam.

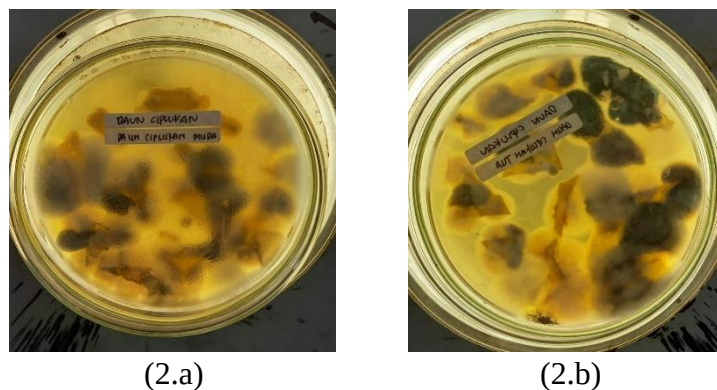
Sedangkan pada pengujian lainnya diperoleh nilai sig <0.05 *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 4, isolat DC 2 dengan isolat DC 4, isolat DC 3 dengan isolat DC 4, isolat DC 4 dengan isolat DC 5 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae* 1x24 jam. Pada *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam isolat DC 1 dengan isolat DC 3, DC 4 dan DC 5, isolat DC 2 dengan isolat DC 3, DC 4 dan DC 5, isolat DC 3 dengan isolat DC 4 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae* 2x24 jam.

Lampiran 4 : Dokumentasi Penelitian “Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*”



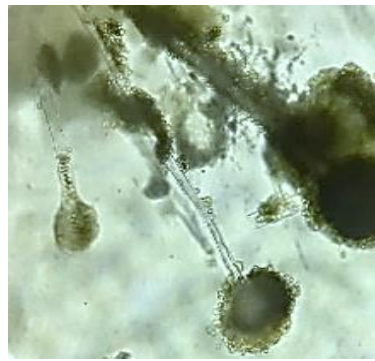
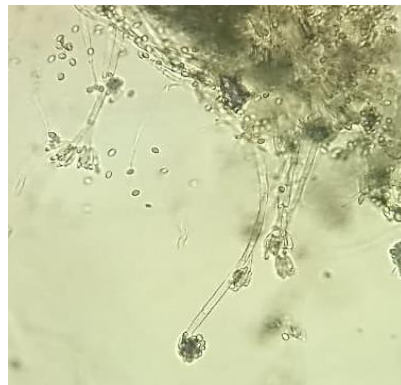
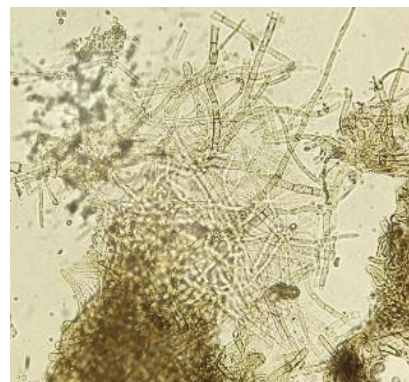
Gambar 1. Proses Pembersihan dan Penanaman Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

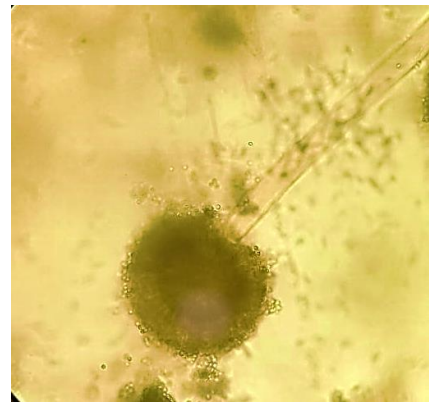
- a. Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)
- b. Pencucian di air mengalir selama 10 menit
- c. Perendaman pada alkohol 75% selama 1 menit
- d. Perendaman pada NaOCl 5% selama 5 menit dilanjutkan dengan perendaman kembali dalam alkohol 75% selama 30 detik
- e. Pemotongan dan penanaman daun ciplukan pada media PDA



Gambar 2. Daun Ciplukan yang Telah Ditanam pada media SDA di hari ke-5

- a. Cawan 1 di hari ke-5
- b. Cawan 2 di hari ke-5

(3.a¹)(3.a²)(3.b¹)(3.b²)(3.c¹)(3.c²)(3.d¹)(3.d²)

(3.e¹)(3.e²)

Gambar 3. Hasil Pengamatan Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) secara Makroskopik dan Mikroskopik.

a^(1,2): Isolat DC 1 secara Makroskopik dan Mikroskopik

b^(1,2): Isolat DC 2 secara Makroskopik dan Mikroskopik

c^(1,2): Isolat DC 3 secara Makroskopik dan Mikroskopik

d^(1,2): Isolat DC 4 secara Makroskopik dan Mikroskopik

e^(1,2): Isolat DC 5 secara Makroskopik dan Mikroskopik



(4.a)



(4.b)



(4.c)



(4.d)



(4.e)

Gambar 4. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

a. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan Warna Hijau Muda

- b. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan Warna Hijau Tua
- c. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan Warna Abu-abu
- d. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan Warna Putih
- e. Fermentasi Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan Warna Hitam



(5.a)



(5.b)



(5.c)

Gambar 5. Penyiapan Pengujian Aktivitas Antibakteri

- a. Pengamatan dibawah Mikroskop
- b. Pembuatan Suspensi *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*
- c. Perendaman *Paper Disk* dalam Suspensi Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit serta penanaman pada Media MHA.



(6.a)



(6.b)



(6.c)

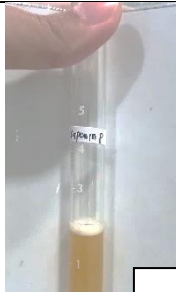


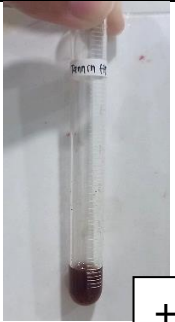
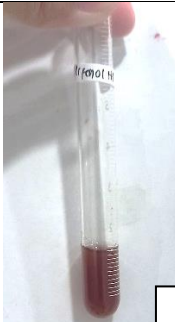
(6.d)

Gambar 6. Diameter Zona Hambat yang Terbentuk

- a. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan terhadap *Streptococcus pneumoniae* 1x24 Jam

- b. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan terhadap *Streptococcus pneumoniae* 2x24 Jam
- c. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan terhadap *Klebsiella pneumoniae* 1x24 Jam
- d. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan terhadap *Klebsiella pneumoniae* 2x24 Jam.

Metabolit Sekunder	DC 2 (Isolat Hijau Tua)	DC 4 (Isolat Putih)	DC 5 (Isolat Hitam)
Alkaloid (terbentuk endapan)	 (7.a ¹) -	 (7.a ²) +	 (7.a ³) +
Flavonoid (terbentuk warna jingga-merah)	 (7.b ¹) +	 (7.b ²) -	 (7.b ³) -
Saponin (terbentuk busa)	 (7.c ¹) -	 (7.c ²) +	 (7.c ³) -

Tannin (terbentuk warna biru-hijau)	 (7.d ¹)	 (7.d ²)	 (7.d ³)
Polifenol (terbentuk warna ungu)	 (7.e ¹)	 (7.e ²)	 (7.e ³)

Keterangan :

(+) : Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) : Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Gambar 7. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

a^(1,2,3) : Uji Kandungan Senyawa Alkaloid

b^(1,2,3) : Uji Kandungan Senyawa Flavonoid

c^(1,2,3) : Uji Kandungan Senyawa Saponin

d^(1,2,3) : Uji Kandungan Senyawa Tannin

e^(1,2,3) : Uji Kandungan Senyawa Polifenol

Lampiran 5 : Kode Etik Penelitian

**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN**

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR

Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappoccini, Makassar

E-mail: kepkipolkesmas@poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
 DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
 "ETHICAL EXEMPTION"

No.: 0791/M/KEPK-PTKMS/XI/2023

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :

The research protocol proposed by

Peneliti Utama

: ALIFA AMALIAH MALIK

Principal in Investigator

Nama Institusi

: Prodi D4 Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar

Name of the Institution

Dengan Judul:

Title

**"Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.)
 Terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*"**

*"Isolation, Identification and Antibacterial Activity Test of Endophytic Fungi of Ciplukan Leaf (*Physalis angulata* L.)
 Against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*"*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 11 Desember 2023 sampai dengan tanggal 11 Desember 2024.

Declaration of ethics applies during the period December 11, 2023 until December 11, 2024.



December 11, 2023
 Professor and Chairperson,

Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
 Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran 6 : Surat Keterangan Penelitian


**Kementerian Kesehatan
Poltekkes Makassar**

Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan, 90222
08115566606
<https://portal.poltekkes-mks.ac.id/>

SURAT KETERANGAN

Nomor: PP.02.03/F.XX.11.4/309/2024

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Ida Adhayanti, S.Si., M.Sc., Apt

NIP : 19840829 200801 2 005

Jabatan : Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar

Dengan ini menerangkan bahwa :

NO.	NAMA	NIM	JUDUL SKRIPSI	TEMPAT PENELITIAN
12	Alifa Amaliah Malik	PO714251201007	Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) Terhadap <i>Streptococcus pneumoniae</i> dan <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Laboratorium Mikrobiologi

Benar mahasiswa tersebut telah melaksanakan penelitian sesuai dengan judul penelitian dan tempat penelitian yang tertera pada tabel diatas.

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 28 Mei 2024

Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan
Kementerian Kesehatan Makassar,

**Ida Adhayanti, S.Si, M.Sc, Apt**

NIP. 198408292008012005

Lampiran 7: Surat Pernyataan Bebas Plagiat

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alifa Amaliah Malik
NIM : PO.71.4.251.20.1.007
Program Studi : Sarjana Terapan (D4)
Jurusan : Farmasi

Dengan ini menyatakan bahwa judul penelitian “Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*” benar bebas dari plagiat, dan apabila pernyataan ini terbukti tidak benar maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, Juli 2024

Yang membuat pernyataan,



Alifa Amaliah Malik

SKRIPSI ALIFA AMALIAH MALIK TURNITIN 2.docx

ORIGINALITY REPORT

18%

SIMILARITY INDEX

8%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

16%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Badan PPSDM Kesehatan
Kementerian Kesehatan

Student Paper

15%

2

dspace.uii.ac.id

Internet Source

1%

3

repository.ar-raniry.ac.id

Internet Source

<1%

4

e-journal.hamzanwadi.ac.id

Internet Source

<1%

5

repository.unika.ac.id

Internet Source

<1%

6

www.scribd.com

Internet Source

<1%

7

journal.poltekkes-mks.ac.id

Internet Source

<1%

8

Submitted to Universitas Bengkulu

Student Paper

<1%

9

Submitted to Brisbane Catholic Education

Student Paper

<1%