

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* (L) Miers) TERHADAP *Salmonella typhi* DAN *Bacillus subtilis*

Isolation, Identification And Testing Of Antibacterial Activity Of Brotowali Stick Endophyte Fungi (*Tinospora Crispa* (L) Miers) Against *Salmonella Typhi* And *Bacillus Subtilis*

Nur Fadhilah^{1*}, St.Ratnah², Dwi Rachmawaty Daswi³
Poltekkes Kemenkes Makassar

*nurfadhilah_far_2020@poltekkes-mks.ac.id

ABSTRACT

*Brotowali stem (*Tinospora crispa* (L) Miers) is a traditional plant that is empirically believed by the community to treat diseases such as diarrhea. *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis* are types of bacteria that can cause diarrhea. This research aims to obtain isolates of endophytic fungi from Batang Brotowali which have the potential to produce secondary metabolites. Endophytic fungi were isolated by sterilizing Brotowali stems with 75% alcohol and NaOCl, then inoculated repeatedly on SDA media for 5-7 days until pure isolates were obtained. Fermentation was carried out using PDB media for 2-3 weeks then extraction using ethyl acetate. Ethyl acetate extract was used for antibacterial testing using the agar diffusion method on MHA media. The results of the research obtained 5 pure isolates, namely isolate BB 1 (dark purple) suspected of being *Cladosporium* sp, isolate BB 2 (white) suspected of being *Cylindrocladium* sp., isolate BB 3 (black) suspected of being *Aspergillus niger*, isolate BB 4 (green) suspected of being *Aspergillus flavus* and isolate BB 5 (ash) is suspected to be *Colletotrichum* s.p. Antibacterial testing showed that all Batang Brotowali isolates had the potential to inhibit and kill *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*.*

Keywords : *Bacillus subtilis, Brotowali Stem, Endophytic Fungi, Salmonella typhi*

ABSTRAK

Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) merupakan tanaman tradisional yang diyakini secara empiris oleh masyarakat untuk mengobati penyakit seperti diare. *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis* merupakan jenis bakteri yang dapat menyebabkan diare. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat fungi endofit dari Batang Brotowali yang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder. Fungi endofit diisolasi dengan cara sterilisasi Batang Brotowali dengan alkohol 75% dan NaOCl, Selanjutnya di inokulasi secara berulang pada media SDA selama 5-7 hari hingga diperoleh isolat murni. Dilakukan fermentasi dengan media PDB selama 2-3 minggu kemudian di ekstraksi menggunakan etil asetat. Ekstrak etil asetat digunakan untuk pengujian antibakteri dengan metode difusi agar pada media MHA. Hasil penelitian diperoleh 5 isolat murni, yakni isolat BB 1 (ungu tua) diduga *Cladosporium* sp, isolat BB 2 (putih) diduga *Cylindrocladium* s.p, isolat BB 3 (hitam) diduga *Aspergillus niger*, isolat BB 4 (hijau) diduga *Aspergillus flavus* dan isolat BB 5 (abu) diduga *Colletotrichum* s.p. Pengujian antibakteri didapatkan semua isolat Batang Brotowali berpotensi menghambat serta membunuh *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*.

Kata kunci : *Bacillus subtilis, Batang Brotowali, Fungi endofit, Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Diare merupakan keadaan buang air besar dengan konsentrasi yang lembek ataupun cair, terlebih lagi dapat berbentuk air saja dengan frekuensi selalu lebih dari rata-rata adalah 3 kali ataupun lebih dalam satu hari. Banyak sebab efek yang diduga sebagai pemicu terbentuknya penyakit diare, ialah mengenai kebersihan area yang kurang baik, persediaan air yang tidak higienis serta sedikitnya pengetahuan. (Putri *et al.*, 2023).

Salmonella typhi dan *Bacillus subtilis* adalah dua jenis bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. *Salmonella typhi* merupakan salah satu penyebab utama diare (Njoya, *et al.*, 2021), sedangkan

Bacillus subtilis adalah bakteri yang umumnya dikenal karena potensi biosintesisnya yang tinggi. Bakteri ini terkenal karena produksi lipopeptida siklik yang memiliki aktivitas surfaktan dan antimikroba yang kuat, seperti *surfaktin*, *iturin*, dan *fengycin* (Kaspar, et al., 2019). Selain itu, *Bacillus subtilis* juga menjadi penyebab terganggunya sistem imun akibat penyakit gastroenteritis akut (diare akut) dan meningitis (Sudarwati dan Fernanda, 2018). Infeksi bakteri ini telah menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di seluruh dunia, termasuk di negara kita.

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan hayati yang cukup besar yang dapat dikembangkan terutama untuk obat tradisional. Pemakaian obat tradisional guna menjaga kesehatan, penanganan serta penyembuhan sudah dinyatakan pada himpunan medis dunia (WHO). Indonesia mempunyai modal guna dikembangkannya obat tradisional, penentuan tanaman obat yang hendak dipakai melalui wawasan serta keserangan pada lingkup sekitar (Astana & Nisa, 2018). Salah satu tanaman yang dibudidayakan sebagai tanaman obat yaitu brotowali. Brotowali adalah tanaman obat yang mempunyai banyak nama ilmiah, beberapa diantaranya yaitu : *Tinospora crispa*, *Tinospora rumphii* atau *Tinospora tabrucula*. Tanaman ini termasuk dalam famili tumbuhan *Menispermaceae*. Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan nama *andawali*, *brotowali*, *putrawali* atau daun gendel. Sedangkan di Cina brotowali disebut *Shen Jin Teng* (Suliswinarmi, 2019).

Fungi endofit merupakan fungi yang dapat hidup di dalam tumbuhan, berasosiasi dalam jaringan tumbuhan dan mempertahankan inangnya terhadap herbivora, serangga, dan pathogen melalui hubungan mutualitis. Fungi endofit mampu menghasilkan beberapa senyawa seperti steroid, terpenoid, fenolik, alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan, anti kanker, antibakteri, antivirus, anti fungi. Keberadaan kapang endofit dalam jaringan karena kemampuan penetrasi koloni kapang tanpa merusak sel inangnya dan senyawa bioaktif paling sering ditemukan adalah alkaloid. Beberapa alkaloid ternyata hanya dapat dihasilkan oleh tanaman yang terinfeksi jamur (Pakadang et al., 2021).

Kemampuan suatu endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inang sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam fungi endofit. Mikroba endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi di bidang farmasi meliputi senyawa antibiotika, antivirus, antikanker, antioksidan, biosektisida, immunosupresif, serta antidiuretic. Fungi endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Kemampuan suatu endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inang sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam fungi endofit (Asri et al., 2021). Mikroorganisme yang dikenal sebagai fungi endofit berkoloni didalam sistem jaringan tanaman seperti pada daun, batang, bunga, biji dan akar tanpa menimbulkan efek merugikan pada tanaman asalnya.

Fungi endofit membantu menjaga toleransi tanaman terhadap cekaman abiotik seperti peningkatan toleransi kekeringan, kerusakan tanaman oleh cuaca panas dan dingin, pH rendah dan kondisi lingkungan salinitas tinggi dan menjelaskan kehadiran unsur logam berat yang terdapat dalam tanah. Jamur endofit bisa memproduksi senyawa aktif biologis yang serupa atau identik dengan tanaman inangnya. Sejumlah besar jamur endofit telah diambil dari tanaman dan juga spons, rumput laut, serta tanaman laut sejak pacilitaxel isolasi dari jamur endofit pasifik Yew pada tahun 1993. Senyawa biologis yang aktif seperti tannin, saponin, asam fenolat, alkaloid, kuinon, steroid, dan terpenoid berasal dari fungi endofit. Senyawa ini melindungi inang dari cekaman biotik dan abiotik. Metabolit aktif ini dapat digunakan sebagai kandidat obat untuk mengobati penyakit seperti kanker, malaria, tuberculosis, virus, diabetes, dan anti inflamasi (Eltivitasari A dkk., 2021).

Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa batang brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan penelitian tersebut harus dikembangkan. Penelitian mengenai mikroba endofit khususnya fungi endofit dari Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) belum banyak dilakukan. Oleh karena itu diperlukan penelitian tentang Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) terhadap *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Makassar. Penelitian diawali dari proses persiapan bahan yaitu Batang Brotowali, mengkultur fungi endofit dari batang, isolasi dan pemurnian isolate fungsi endofit, dan terakhir dilakukan pengujian aktivitas antibakteri isolate fungsi endofit.

Bahan dan alat

Adapun bahan – bahan yang digunakan selama proses penelitian ini yaitu Aluminium foil, Alkohol 75% Aquadest steril, Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers), kloramfenikol, larutan NaOCl 5%, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA,), media *Potato Dextrose Broth* (PDB), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), NaCl 0,9%, spiritus, swab steril dan tissue. Adapun bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu autoklaf, batang pengaduk, cutter, cawan petri, *deck glass*, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, gunting, incubator, jarum ose, label, *laminari air flow*, mikroskop, *object glass*, oven, *paper disk*, penggaris, pinset, pipet tetes, rak tabung, spiritus, spoit, tabung reaksi dan timbangan analitik.

Langkah-Langkah Penelitian

Fungi endofit yang diperoleh bersumber dari Batang Brotowali segar yang didapatkan dari Kabupaten Soppeng. Tahap awal yang dilakukan adalah Batang Brotowali disterilisasi bagian permukaannya dengan langkah-langkah sebagai berikut: dilakukan pencucian pada sampel tanaman menggunakan air mengalir selama 10 menit, pemotongan bagian-bagian batang tanaman dengan ukuran kecil hingga sedang (seluruh bagian batang yang diambil sebagai sampel mewakili semua jaringan batang), perendaman menggunakan alkohol 75% selama 1 menit, dilanjutkan dengan perendaman dalam natrium hipoklorit (NaOCl) 5% hingga 5 menit, dan terakhir perendaman dalam alkohol 75% selama 30 detik. Selanjutnya batang yang sudah disterilkan dikeringkan untuk menghilangkan sisa-sisa alkohol. Lalu batang tersebut dipotong menggunakan pisau steril dengan ukuran ± 1 cm di atas objek gelas steril.

Prosedur mengkultur fungi endofit dari Batang Brotowali: potongan Batang Brotowali yang sudah melewati proses sterilisasi diinokulasikan pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) yang sebelumnya telah ditambahkan dengan kloramfenikol 0,005%. Setelah batang ditanam pada media, selanjutnya akan diinkubasi selama waktu 5-7 hari (pertumbuhan tiap isolat fungi diamati secara berkala). Hasil isolat yang telah tumbuh pada media dimurnikan dengan cara menginokulasikan kembali tiap jenis isolat fungi yang tumbuh pada media SDA secara terpisah atau ditumbuhkan pada media baru. Inokulasi isolat terus dilakukan pada media baru hingga didapatkan beberapa isolat yang murni. Isolat yang murni kemudian diremajakan untuk menjadi bahan uji selanjutnya. Selama inokulasi, dilakukan pengamatan morfologi jamur endofit secara makro dan mikro. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan melihat bentuk, ciri-ciri permukaan, warna isolat dan bentuk pertumbuhan koloni fungi. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 10x10 dan 40x40 untuk mengevaluasi sifat-sifat unik dan ciri spesifik dari isolat fungi yang nantinya akan dibandingkan dengan literatur atau rujukan yang sesuai dengan isolat fungi endofit yang mirip atau sejenis.

Pengujian aktivitas antibakteri isolat fungi endofit batang brotowali menggunakan metode difusi agar menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) . Isolat fungi yang murni dilanjutkan ke proses fermentasi untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri. Isolat fungi endofit murni yang tumbuh pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) dipotong berbentuk kotak dan diinokulasikan kedalam erlenmeyer yang telah berisi media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB) lalu tempatkan di atas *orbital shaker* 2-3 minggu untuk mendorong produksi metabolit sekundernya. Setelah dilakukan fermentasi selama 2-3 minggu, hasil fermentasi disaring kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat di dalam corong pisah. Pelarut etil asetat yang bersifat semipolar digunakan dengan maksud untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar maupun non polar (Rante *et al.* 2020). Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat yang telah di corong pisah, selanjutnya diupakan menggunakan *rotary evaporator* hingga mendapat ekstrak kental metabolit sekundernya yang diletakkan pada cawan porselin yang sebelumnya telah ditimbang (berat cawan kosong). Kemudian diuapkan kembali di *waterbath* hingga ekstrak mengering dan di timbang kembali cawan beserta ekstraknya. Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh digunakan sebagai pengujian aktivitas antibakteri. Hal serupa dilakukan terhadap semua isolat fungi endofit murni yang diperoleh. Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat di kerok lalu disuspensikan ke dalam DMSO yang perhitungannya sesuai dengan banyaknya ekstrak yang diperoleh (konsentrasi 100%). *Blank paper disc* direndam dalam masing-masing suspensi bahan uji.

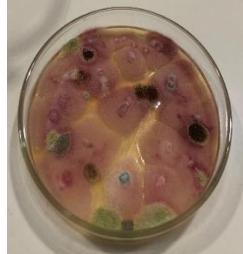
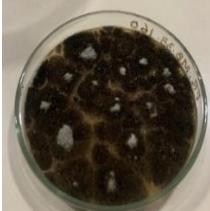
Media dituang dalam cawan petri yang sebelumnya sudah disterilkan, biarkan hingga beku. Suspensi bakteri uji *Salmonella typhi* disebarluaskan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan swab steril hingga merata, kemudian *paper disk* yang telah mengandung ekstrak bahan uji diletakkan pada permukaan media secara teratur. Perlakuan yang sama pula untuk bakteri uji *Bacillus subtilis*. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar isolat.

Pengolahan dan analisis data

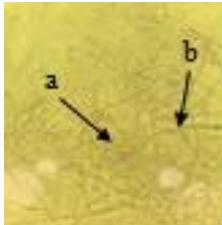
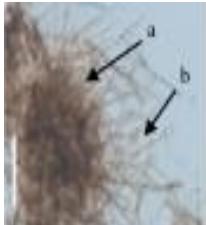
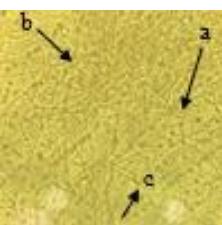
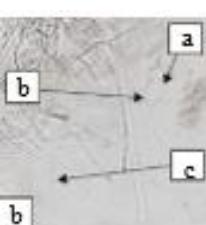
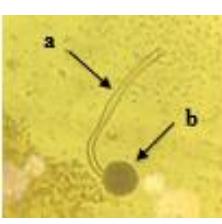
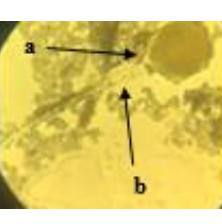
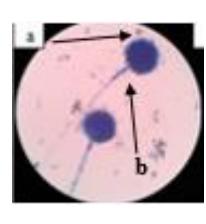
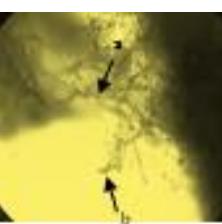
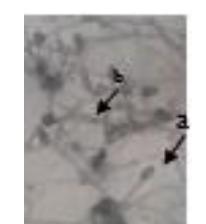
Data yang didapatkan dari pengukuran diameter zona hambat ditabulasikan, kemudian dirata-ratakan, lalu dianalisis secara statistik menggunakan SPSS.

HASIL

Tabel 1. Karakteristik Makroskopik Isolat Fungi Endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers)

No.	Nama Isolat	Gambar Makroskopik	Pengamatan Makroskopik	Pengamatan Rujukan
1.	BB 1 (Ungu Tua)		Koloni tumbuh berkelompok dan hifa berdempetan berwarna ungu tua dan pada bagian pinggirnya berwarna ungu muda serta bagian permukaannya halus dan berbulu	<i>Cladosporium, Sp</i> Memiliki koloni berwarna hijau yang secara bertahap berubah menjadi gelap (ungu) serta memiliki tekstur yang lembut.
2.	BB 2 (Putih)		Diduga <i>Cladosporium, sp</i> Koloni tumbuh berkelompok berwarna putih. Permukaan yang lembut dan halus seperti kapas	<i>Cylindrocladium s.p</i> Memiliki bentuk bulat yang berwarna putih dibagian atas, bawah dan tepi serta memiliki tekstur seperti kapas.
3.	BB 3 (Hitam)		Diduga <i>Aspergillus niger</i> Koloni tumbuh secara berkelompok berwarna hitam dengan permukaan yang kasar menyerupai pasir	<i>Aspergillus niger</i> Koloni <i>Aspergillus niger</i>
4.	BB 4 (Hijau)		Diduga <i>Aspergillus niger</i> Koloni berwarna hijau, pada bagian tengahnya terdapat warna putih dan permukaan yang kasar menyerupai pasir	<i>Aspergillus flavus</i> memiliki ciri-ciri koloni berwarna kekuningan sampai kehijauan, powdery atau seperti pasir.
5.	BB 5 (Abu-abu)		Diduga <i>Aspergillus flavus</i> Koloni tumbuh berwarna abu-abu dan permukaan yang halus	<i>Colletotrichum s.p</i> Memiliki koloni berbentuk abu-abu tua dengan conidial mass berwarna abu-abu

Tabel 2. Karakteristik Isolat Fungi Endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) secara mikroskopik setelah inkubasi 7 hari

Isolat	Hasil Pengamatan	Pustaka Rujukan	Deskripsi
BB 1 (Ungu Tua)			a. Konidia b. Cabang konidiofor
BB 2 (Putih)			a. Konidia b. Konidiofor
BB 3 (Hitam)			a. Konidia b. Konidiospora
BB 4 (Hijau)			a. Konidia b. Konidiospora
BB 5 (Abu-Abu)			a. Konidia b. Konidiofor

Tabel 3. Hasil Mann Whitney Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) Terhadap *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Salmonella typhi</i> (1x24 jam)	Isolat BB 1	3	18,83	1,89	18,00 ^a	17,50	21,00
	Isolat BB 2	3	19,16	1,25	19,00 ^{ab}	18,00	20,50
	Isolat BB 3	3	18,66	2,75	18,50 ^{abc}	16,00	21,50
	Isolat BB 4	3	20,00	2,29	19,50 ^{abcd}	18,00	22,50
	Isolat BB 5	3	21,66	1,52	22,00 ^{abcd}	22,00	23,00

Superscript ^{abcd} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* 1x24 jam

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Salmonella typhi</i> (2x24 jam)	Isolat BB 1	3	14,33	2,92	15,50 ^p	11,00	16,50
	Isolat BB 2	3	0,00	0,00	0,00 ^{pq}	0,00	0,00
	Isolat BB 3	3	14,83	0,57	14,50 ^{pqr}	14,50	15,50
	Isolat BB 4	3	17,00	1,00	17,00 ^{ps}	16,00	18,00
	Isolat BB 5	3	15,56	1,75	15,50 ^{pqrs}	14,00	17,50

Superscript ^{pqrs} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* 2x24 jam

Tabel 4. Hasil Mann Whitney Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) Terhadap *Bacillus subtilis*

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Bacillus subtilis</i> (1x24 jam)	Isolat BB 1	3	18,00	0,50	18,00 ^a	17,50	18,50
	Isolat BB 2	3	18,16	2,25	18,00 ^{ab}	16,00	20,50
	Isolat BB 3	3	17,83	1,52	17,50 ^{abc}	16,50	19,50
	Isolat BB 4	3	19,00	1,32	18,50 ^{abcd}	18,00	20,50
	Isolat BB 5	3	19,93	2,02	20,50 ^{abcd}	17,00	20,50

Superscript ^{abcd} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* 1x24 jam

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Bacillus subtilis</i> (2x24 jam)	Isolat BB 1	3	14,33	2,92	15,50 ^p	11,00	16,50
	Isolat BB 2	3	0,00	0,00	0,00 ^{pq}	0,00	0,00
	Isolat BB 3	3	14,83	0,57	14,50 ^{pqr}	14,50	15,50
	Isolat BB 4	3	17,00	1,00	17,00 ^{ps}	16,00	18,00
	Isolat BB 5	3	15,56	1,75	15,50 ^{pqrs}	14,00	17,50

Superscript ^{pqrs} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* 2x24 jam

PEMBAHASAN

Fungi endofit adalah fungi yang hidup di dalam jaringan tumbuhan, baik secara inter maupun intra sel, tanpa menunjukkan gejala penyakit pada tanaman tersebut. Hubungan endofit dengan tanaman inangnya umumnya dianggap sebagai hubungan mutualisme, di mana fungi endofit menghasilkan mikotoksin dan metabolit sekunder lainnya yang mengubah fisiologi dan biokimia sel tanaman inang, menghambat perkembangan patogen tanaman, sementara fungi endofit mendapatkan nutrisi dari tanaman inangnya. Kemampuan fungi endofit untuk merangsang respons metabolisme tanaman inang membuat tanaman menjadi lebih tahan terhadap patogen, sehingga banyak penelitian yang menggunakan fungi endofit dengan cara diinokulasikan pada tanaman komoditas untuk mengendalikan penyakit di lahan pertanian. Sebagai agen biokontrol, fungi endofit memiliki dampak besar dalam meningkatkan

produktivitas tanaman dan disarankan oleh beberapa ahli ekologi tanaman sebagai biopestisida untuk mencapai pertanian yang berkelanjutan dan ramah lingkungan (Sari, 2020). Fungi endofit yang berasal dari tumbuhan memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai agen antibakteri (Suleman dan Arna, 2022). Adapun mekanisme kerja fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu merusak dinding sel dengan menghambat struktur sel selama atau setelah pembentukan dinding sel, sehingga mengganggu struktur sel. Seperti halnya antibiotik penisilin yaitu dengan menghambat pembentukan dinding sel dan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba. Kemudian pengubahan permeabilitas sel yaitu kerusakan membran plasma dengan menghambat pertumbuhan sel karena fungsi membran plasma adalah mempertahankan bagian-bagian tertentu dari sel dan mengatur aktivitas difusi zat-zat penting serta membentuk keutuhan komponen seluler. Selanjutnya penghambatan kerja enzim yaitu menyebabkan aktivitas seluler tidak berfungsi dengan baik. Misalnya sulfonamid, memblokir sintesis folat asam amino esensial dengan bersaing dengan PABA. Lalu penghambatan sintesis asam nukleat dan protein, DNA dan RNA yang mempunyai peran yang sangat penting sebagai bahan baku pembentukan sel bakteri, penghambatan DNA dan RNA akan mengakibatkan kerusakan pada sel. Serta pengubahan molekul protein dan asam nukleat, sel hidup bergantung pada molekul protein dan asam nukleat untuk mempertahankan keadaan alaminya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein adan asam nuklet sehingga merusak sel secara permanen. (Rollando, 2019)

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengevaluasi potensi fungi endofit dari Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*, mengetahui jumlah isolat yang ada serta mengidentifikasi isolat fungi yang ditemukan. Adapun metode yang digunakan adalah metode difusi, dimana komponen antimikroba dan fungi endofit akan berdifusi ke dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan membentuk zona bening yang menghambat pertumbuhan mikroba. Pembentukan zona bening yang terjadi pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) menunjukkan bahwa fungi endofit memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Pengamatan tersebut dilakukan setelah masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam pada suhu 37°C.

Fungi yang tumbuh dari Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) merupakan fungi endofit karena sebelumnya telah dilakukan sterilisasi permukaan pada bahan uji. Sterilisasi permukaan tersebut bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang ada dipermukaan batang brotowali, dilakukan dengan menggunakan alkohol 75% dan natrium hipoklorit 5% dimana natrium hipoklorit ini dapat membunuh bakteri sebesar 98% dengan waktu kontak 30 detik (Maharani & Hendrasarie, 2020) sedangkan alkohol 75% dapat melarutkan membran lipid dan mendenaturasikan protein pada mikroba sehingga membunuh mikroorganisme (Auliya *et al.*, 2021). Setelah itu di inokulasi pada media SDA selama 5-7 hari dan di inkubasi pada suhu 25°C dan berhasil ditumbuhkan fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) sebanyak 5 isolat murni yaitu isolat berwarna ungu sebagai isolat BB 1, isolat berwarna putih sebagai isolat BB 2, isolat berwarna hitam sebagai isolat BB 3, isolat berwarna hijau sebagai isolat BB 4 dan isolat berwarna abu-abu sebagai isolat BB 5.

Isolat BB 1 dari fungi endofit pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) memiliki tampilan makroskopik berupa warna koloni ungu tua. Tumbuh dalam bentuk bulatan atau berbentuk hifa yang berdempetan. Koloni ini terlihat lembut dan berbulu. Secara mikroskopik memiliki struktur konidiofor yang tinggi tegak, bercabang dan berserabut. Berdasarkan ciri-ciri tersebut maka isolat BB 1 diduga adalah *Cladosporium sp.* *Cladosporium sp* yang memiliki koloni berwarna hijau yang secara bertahap berubah menjadi gelap (ungu). Serta memiliki tekstur yang lembut, koloni cendawan ini memiliki warna hijau zaitun yang secara perlahan berubah menjadi kehitaman (ungu kehitaman) di media dan memiliki tekstur yang lembut. (Pemuda *et al.*, 2022)

Isolat BB 2 dari fungi endofit pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) yaitu berupa koloni berwarna putih yang tumbuh dalam bentuk bulatan dan tekstur permukaan benang yang berbentuk seperti benang-benang halus. pada isolat BB 2 terlihat tinggi, tegak, bercabang, dan berserabut. Berdasarkan ciri-ciri tersebut, diduga bahwa isolat BB 2 adalah *Cylindrocladium sp.*, sesuai dengan yang dikemukakan oleh (Manurung & Kurniatuhadi, 2022) yang menjelaskan bahwa isolat jamur *Cylindrocladium* berbentuk bulat yang berwarna putih dibagian atas, bawah, dan tepi. Ciri mikroskopis menunjukkan hifa bersekat, spora yang halus, memiliki konidia, konidiofor, dan cabang konidiofor. *Cylindrocladium* memiliki bentuk koniofor bulat berwarna hialin dan bercabang. Sedangkan ciri makroskopis berbentuk bulat, tekstur kapas berwarna putih serta tepi yang meruncing.

Isolat BB 3 dari fungi endofit pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) yaitu secara makroskopik terlihat berwarna hitam kecoklatan dan secara mikroskopik hifa bersepta dan bercabang. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh (Bayjili *et al.*, 2023) bahwa dilihat secara makroskopik, koloni *Aspergillus niger* memiliki warna hitam kecoklatan. Di bawah mikroskop, konidia terlihat menempel

pada permukaan vesikal dan memiliki bentuk yang mirip bunga matahari berwarna hitam. Hal ini konsisten dengan deskripsi bahwa *Aspergillus niger* memiliki hifa yang bersepta dan bercabang secara mikroskopis. Secara makroskopis, *Aspergillus* memiliki hifa yang terlihat di permukaan vesikel.

Isolat BB 4 *Aspergillus flavus* dari fungi endofit pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) secara makroskopis terlihat berwarna hijau yang pada bagian tengahnya terdapat warna putih dan permukaan yang kasar menyerupai bludru. Hal ini sesuai yang dikemukakan oleh (Lindawati Sari *et al.*, 2019) bahwa dilihat secara makroskopis koloni yang terlihat berwarna hijau kekuningan dan pada bagian bawahnya berwarna kekuningan sampai coklat sedangkan secara mikroskopis veskula berbentuk bulat da konidia berbentuk bulat.

Isolat BB 5 (Abu-abu), dari fungi endofit pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) menghasilkan koloni yang berwarna hijau pucat, abu-abu hingga kehitaman. Koloni yang nampak berwarna hijau gelap dan nampak seperti bludru. Konidiofornya tidak berwarna, bagian atas agak bulat serta konidia kasar dengan bermacam-macam warna, berukuran kurang lebih 1 mm dan tepat dibawah vesikel bulat biasanya kasar. Berdasarkan hal tersebut maka isolat BB 5 diduga *Colletorichum sp*. Menurut (Hanum, 2022) isolat ini adalah *Colletotrichum sp* terlihat pada bagian atas koloni berbentuk abu abu tua dengan *conidial mass* berwarna abu-abu dimana pengamatan mikroskopis yang dihasilkan terdapat vesikel, konidiofor dan konida.

Kemudian semua isolat murni yang ditemukan dilakukan tahap fermentasi. Tujuannya untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada isolat yang ditemukan. Dilakukan dengan cara isolat murni dibuat starter pada cawan petri yang berisi media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian diinkubasi selama 2-3 hari hingga isolat tumbuh. Setelah isolat tumbuh, lalu di potong berbentuk kotak dan diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media *Potato Dextrose Broth* (PDB) lalu diinkubasi selama 2-3 minggu. Hasil fermentasi selama 2-3 minggu kemudian di ekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat dalam corong pisah. Tujuan menggunakan pelarut etil asetat karena pelarut etil asetat memiliki sifat semipolar sehingga akan didapatkan komponen yang bersifat polar (Rante *et al.*, 2020). Tujuan lain menggunakan pelarut etil asetat karena metode yang digunakan yaitu metode ekstraksi cair-cair yaitu proses pemisahan fase cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengekstrak sehingga digunakan pelarut etil yang tidak larut terhadap air (Mirwan, 2018)

Setelah dilakukan ekstraksi dengan 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*. Kemudian hasil ekstrak masing-masing isolat fungi endofit diletakkan pada cawan porselen, yang sebelumnya telah ditimbang. Selanjutnya ekstrak yang didapatkan diuapkan kembali di atas *water bath* hingga didapatkan ekstrak yang kering. Lalu cawan yang berisi ekstrak kering tersebut ditimbang kembali. Hasil timbangan cawan porselen kosong dengan cawan yang berisi ekstrak kering dihitung untuk mendapatkan berapa ml/tetes DMSO yang akan disuspensikan ke ekstrak kering tersebut. Kemudian cawan yang berisi ekstrak kering disuspensikan ke dalam DMSO (konsentrasi 100%) sesuai perhitungan sebelumnya dan 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. Kemudian *paper disk* diletakkan pada permukaan media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah di inokulasikan *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*. Kemudian cawan petri di inkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Setelah itu, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur. Dimana hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menunjukkan area hambatan pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) disekitar *paper disk* isolat fungi endofit Batang Brotowali.

Hasil pengamatan menunjukkan terbentuknya zona hambatan dari isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis* selama 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Hasil pengujian terhadap *Salmonella typhi* 1 x 24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat BB 1 sebesar 18,83 mm; isolat BB 2 sebesar 19,16 mm; isolat BB 3 sebesar 18,66 mm; isolat BB 4 sebesar 20,00 mm; isolat BB 5 sebesar 21,67 mm. Sedangkan hasil pengujian terhadap *Salmonella typhi* 2 x 24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat BB 1 sebesar 14,33 mm; isolat BB 2 sebesar 15,00 mm; isolat BB 3 sebesar 14,83 mm; isolat BB 4 sebesar 17,00 mm; isolat BB 5 sebesar 15,66 mm.

Hasil pengujian terhadap *Bacillus subtilis* 1 x 24 jam diperoleh rata-rata zona hambat yaitu pada isolat BB 1 sebesar 18,00 mm; isolat BB 2 sebesar 18,16 mm; isolat BB 3 sebesar 17,83 mm; isolat BB 4 19,00 mm; isolat BB sebesar 19,33 mm. Sedangkan hasil pengujian terhadap *Bacillus subtilis* 2 x 24 jam diperoleh rata-rata zona hambat pada isolat BB 1 sebesar 15,50 mm; isolat BB 2 sebesar 14,00 mm;

isolat BB 3 sebesar 12,33 mm; isolat 4 sebesar 13,16 mm; isolat BB 5 sebesar 13,5 mm.

Analisis statistik untuk data aktivitas isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) terhadap *Salmonella typhi* 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Analisis normalitas menunjukkan ada data yang berdistribusi normal dan ada data yang berdistribusi tidak normal dengan nilai sig. 0,000-1,000. Uji homogenitas menunjukkan ada data yang homogen dan ada yang tidak homogen dengan nilai sig. 0,023- 0,717. Berhubung ada data yang tidak normal maka pengujian dilakukan dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Salmonella* 1 x 24 jam menunjukkan nilai sig. 0,367 > 0,05 hal ini menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* selama 1 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri isolat fungi endofit satu dengan lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan isolat BB 1 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 2, BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 2 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 3 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 4 dan BB 5. Isolat BB 4 memiliki aktivitas yang berbeda nyata dengan isolat BB 5.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Salmonella typhi* 2 x 24 jam menunjukkan nilai sig. 0,232 > 0,05 hal ini menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* selama 2 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri isolat fungi endofit satu dengan lainnya. Analisis *Mean Whitney* menunjukkan bahwa isolat BB 1 memiliki aktivitas tidak berbeda nyata dengan isolat BB 2, BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 2 memiliki aktivitas tidak berbeda nyata dengan isolat BB, 3 dan BB 5 dan berbeda secara nyata dengan isolat BB 4. Isolat BB 3 memiliki aktivitas tidak berbeda nyata dengan isolat BB 5 dan berbeda secara nyata dengan isolat BB 4. Isolat BB 4 memiliki aktivitas tidak berbeda nyata dengan isolat BB 5.

Analisis statistik untuk data aktivitas isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) terhadap *Bacillus subtilis* 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Analisis normalitas menunjukkan ada data yang berdistribusi normal dan ada data yang berdistribusi tidak normal dengan nilai sig. 0,000-1,000. Uji homogenitas menunjukkan data yang homogen dengan nilai sig. 0,266-0,304. Kemudian, dilakukan dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Bacillus subtilis* 1 x 24 jam menunjukkan nilai sig. 0,695 > 0,05 hal ini menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* selama 1 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri isolat fungi endofit satu dengan lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan isolat BB 1 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 2, BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 2 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 3 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 4 dan BB 5. Isolat BB 4 memiliki aktivitas yang berbeda nyata dengan isolat BB 5.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pada *Bacillus subtilis* 2 x 24 jam menunjukkan nilai sig. 0,630 > 0,05 hal ini menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan isolat fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* selama 2 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri isolat fungi endofit satu dengan lainnya. Analisis *Mann Whitney* menunjukkan isolat BB 1 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 2, BB 3 dan BB 5 dan memiliki aktivitas berbeda nyata dengan isolat BB 4. Isolat BB 2 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 3, BB 4 dan BB 5. Isolat BB 3 memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat BB 4 dan BB 5. Isolat BB 4 memiliki aktivitas yang berbeda nyata dengan isolat BB 5.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ditemukan bahwa semua isolat pada Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) yaitu isolat BB 1, BB 2, BB 3, BB 4 dan BB 5 yaitu bersifat bakteriostatik dan bakteriosida yang artinya dapat menghambat dan membunuh terhadap *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa:

1. Isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) yang ditemukan adalah 5 isolat murni yaitu isolate BB 1 (ungu tua) diduga fungi *Cladosporium sp*, isolate BB 2 (putih) diduga fungi *Cylindrocladium s.p.*, isolate BB 3 (hitam) diduga fungi *Aspergillus niger*, isolate BB 4 (Hijau) diduga fungi *Aspergillus flavus* dan isolate BB 5 (Abu-abu) diduga fungi *Colletotrichum sp.*
2. Uji aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk pada semua isolate yaitu isolate BB 1, BB 2, BB 3, BB 4 dan BB 5 terhadap *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis* pada inkubasi 1x24 jam dan 2x24 jam, namun zona hambat yang terbentuk semakin mengecil pada inkubasi 2x24 jam dibandingkan dengan inkubasi 1x24 jam. Semua isolat bersifat menghambat dan membunuh terhadap *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik dari setiap isolat fungi endofit Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) yang diperoleh serta aktivitas antibakteri yang dimilikinya

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada orang tua tercinta, **Bapak Drs. Supriadi dan Ibu Jumaini**. Yang telah memberikan dukungan, motivasi dan doa yang senantiasa dipanjangkan kepada Allah SWT demi kelancaran penulis.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada dosen Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar khususnya dosen pembimbing **Ibu St.Ratnah. S.Si.,M.Kes** dan **Ibu Dwi Rachmawaty D, S.Farm.,M.Kes** yang telah meluangkan waktu, tenaga atas bimbingan dan dukungan selama penyusunan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Asri, M. I., Sabaruddin, S., & Fitriana, F. (2021). Isolasi Fungi Endofit Daun Srikaya (*Annona muricata* L.) Sebagai Antioksidan Secara Klt-Autografi. *Journal Microbiology Science*, 1(1), 16–22. <https://doi.org/10.56711/jms.v1i1.818>
- Eltivitasari, A., Rahmawati, Gemantari, B. M., Romadhonsyah, F., Nurrochmad, A., Wahyuono, S., & Astuti, P. (2021). Effect of light exposure on secondary metabolites production of an endophytic fungus arthrinium rasikravindrae and its antioxidant and anticancer activities. *Biodiversitas*, 22(6), 3156–3163. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220618>
- 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 (The Effect of Shade Tree Density on Coffee Berry Borer(*Hypothenemus* . *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4), 1033–1042. www.jim.usk.ac.id/JFP
- Hanum, S. (2022). *Keanekaragaman Kapang Endofit Asal Tanaman Artemisia (Artemesia Annua L) Program Studi Biologi 2022 M / 1443 H.*
- Kaspar, F., Neubauer, P., & Gimpel, M. (2019). Bioactive secondary metabolites from *Bacillus subtilis*: a comprehensive review. *Journal of natural products*, 82(7), 2038–2053.
- 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>
- Mirwan, A., Arriono, D. 2018. Dinamika Tetes Ekstraksi Cair-Cair Sistem Air-Metil Keton (Mek)-Heksan Dalam kolom Isian. *Jurnal Teknik kimia Indonesia* 9(3): 100.

- Manurung, L. P., & Kurniatuhadi, R. (2022). Inventarisasi Jamur Endofit dari Daun Avicennia marina di Mempawah Mangrove Center , Desa Pasir , Kalimantan Barat Invsventory of Endophyte Fungi from Avicennia marina Leaves in Mempawah Mangrove Center , Pasir Village , West Borneo. *LenteraBio*, 11(3), 378–384.
- Njoya, H. F., Awolu, M. M., Christopher, T. B., Duclerc, J. F., Ateudjieu, J., Wirsiy, F. S., ... & Cumber, S. N. (2021). Prevalence and awareness of mode of transmission of typhoid fever in patients diagnosed with *Salmonella typhi* and *paratyphi* infections at the Saint Elisabeth General Hospital Shisong, Bui Division, Cameroon. *Pan African Medical Journal*, 40(1).
- 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>
- Pemuda, I., Purnawati, A., & Mujoko, T. (2022). Deteksi Cendawan Terbawa Benih Gandum asal Australia Menggunakan Metode Blotter Test. *Agritrop : Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 20(1), 38–47. <https://doi.org/10.32528/agritrop.v20i1.6975>
- Putri, F. S., Rahayu, T. P., & Fitriyati, L. (2023). Antibacterial Activity Of Extract Ethanol White Turmeric (*Curcuma mangga Val*) Test On *Bacillus subtilis* Causes Diarrhea Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Kunir Putih (*Curcuma mangga Val*) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* Penyebab Diare. *Prosiding University Research Colloquium*, 622–634.
- Sari, N., 2020. Review of endophytic fungi as biocontrol agents against plant pathogen. *Gontor Agrotech Science Journal*, 6(1), pp.55-73.
- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. A. (2018). Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(2).
- Suleman, A.W. And Arna, A.N., 2022. Isolasi Fungi Endofit Umbi Talas (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara Klt-Bioautografi: The Isolation Of Taro Tuber Endophytic Fungi (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*) As Antibacterial Against *Escherichia Coli* And *Staphylococcus Aureus* By TLC-Bioautography. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(1), Pp.39-48