

POTENSI ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Salmonella typhi*

Nur Aisyiah^{1*}, St. Ratnah¹, Sesilia Rante Pakadang¹, Nurhasmi²

¹Program Studi Sarjana Terapan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Makassar, Kota Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

²Program Studi Fisika, Universitas Negeri Makassar, Kota Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

*Email: nuraisyiah90@gmail.com

Received: 08-06-2023

Accepted: 27-06-2024

Published: 20-08-2024

INTISARI

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang memiliki beragam potensi farmakologis, termasuk sebagai sumber antioksidan, agen antihipertensi, antidiabetes, antikanker, dan memiliki aktivitas antibakteri. Daun alpukat mengandung senyawa bioaktif berupa flavonoid, alkaloid, tanin, serta saponin yang berpotensi sebagai agen antibakteri. Penggunaan fungi endofit sebagai penghasil senyawa bioaktif telah menjadi pendekatan populer dalam penelitian penemuan obat. Pengembangan bahan baku obat melalui kultur fungi endofit menawarkan peluang besar karena setiap fungi endofit yang diisolasi dari satu tumbuhan dapat menghasilkan beberapa senyawa bioaktif. Hal ini memungkinkan penggunaan fungi endofit sebagai alternatif untuk memperoleh senyawa bioaktif tanpa harus melakukan penebangan tanaman herbal, sehingga biodiversitas tanaman tersebut tetap terjaga di alam. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat fungi endofit dari daun alpukat yang memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Metode yang diterapkan untuk menguji efek antibakteri dari fungi endofit adalah difusi agar menggunakan *paper disc*. Hasil penelitian diperoleh 5 isolat fungi endofit, diantaranya isolat DAT1, isolat DAT2, isolat DAT3, isolat DAT4 dan isolat DAT5. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kelima isolat fungi endofit dari daun alpukat mampu memberikan zona hambatan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Kata kunci: daun alpukat, *Escherichia coli*, fungi endofit, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Avocado leaves (*Persea americana* Mill.) are plants with various pharmacological potentials, including as sources of antioxidants, antihypertensive agents, antidiabetic agents, anticancer properties, and antibacterial activities. Avocado leaves contain bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins, which have potential as antibacterial agents. The use of endophytic fungi as producers of bioactive compounds has become a popular approach in drug discovery research. The development of medicinal raw materials through the cultivation of endophytic fungi offers great opportunities because each endophytic fungus isolated from a single plant can produce several bioactive compounds. This allows the use of endophytic fungi as an alternative to obtaining bioactive compounds without having to cut down herbal plants, thus preserving the biodiversity of these plants in nature. This study aims to obtain endophytic fungal isolates from avocado leaves that have the potential to produce antibacterial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. The method applied to test the antibacterial effect of endophytic fungi is the agar diffusion method using paper discs. The results of the study obtained 5

isolates of endophytic fungi, including isolates DAT1, DAT2, DAT3, DAT4, and DAT5. The antibacterial activity tests showed that all five endophytic fungal isolates from avocado leaves were able to provide inhibition zones against the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*.

Keywords: avocado leaves, *Escherichia coli*, endophytic fungi, *Salmonella typhi*

Corresponding author:

Nama : Nur Aisyiah

Institusi : Poltekkes Kemenkes Makassar

Alamat institusi : Jalan Baji Gau Nomor 10 Makassar, 90223 Sulawesi Selatan, Indonesia

E-mail : nuraisyiah90@gmail.com

PENDAHULUAN

Penggunaan mikroba endofit sebagai penghasil senyawa bioaktif yang ditemukan pada mikroba telah menjadi pendekatan yang populer dalam penelitian dan pengembangan saat ini. Mikroba endofit adalah jenis mikroorganisme yang hidup secara simbiotik di dalam jaringan tanaman inang terutama pada bagian akar, batang, dan daun, serta memberikan manfaat bagi tanaman tersebut. Mikroba endofit memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa yang serupa atau berbeda, namun kemungkinan besar senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang sama dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya (Sadikin dkk, 2021). Mikroba endofit terdiri dari beberapa jenis mikroorganisme diantaranya bakteri, fungi dan virus. Telah terbukti bahwa fungi endofit, di antara ketiga jenis mikroorganisme tersebut, mampu menghasilkan metabolit sekunder yang lebih beragam dan memiliki aktivitas biologis yang lebih kuat sebagai agen antimikroba dibandingkan dengan bakteri endofit (Kumar dkk, 2021).

Penelitian yang dilakukan (Indrawati dkk, 2019) menunjukkan bahwa 2 isolat fungi endofit yang diperoleh dari kulit batang tanaman *Lansium domesticum* Corr. ialah spesies dari *Rhizopus* serta *Aspergillus* yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Selain itu, beberapa fungi endofit yang juga berpotensi menghasilkan produk potensial lainnya diantaranya yaitu : isolat fungi endofit yang diperoleh dari buah mangrove (*Sannoretia alba*) yaitu isolat 1 yang diduga *Aspergillus niger* dan isolat 2 yang diduga *Aspergillus flavus* berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* (Pakadang dkk, 2021).

Peluang besar untuk pengembangan bahan baku obat adalah melalui kultur mikroba endofit karena banyak mikroba endofit yang dapat diisolasi dari satu tumbuhan dan masing-masing dapat menghasilkan beberapa senyawa bioaktif. Hal ini terbukti dari penelitian sebelumnya. Hal tersebut dapat mengurangi penebangan tanaman herbal untuk dijadikan simplisia, sehingga biodiversitas tanaman tersebut akan tetap terjaga di alam. Jika tanaman inang telah mati atau punah, hasil isolasi mikroba endofit dari tanaman tersebut masih tetap bisa dimanfaatkan untuk berbagai tujuan (Nasicha 2018).

Persea americana Mill., yang dikenal dengan nama alpukat, merupakan salah satu tumbuhan obat tradisional yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman alpukat telah menyebar luas di Indonesia karena khasiatnya yang terkenal. Berbagai bagian tanaman alpukat, seperti kulit kayu, buah, dan daunnya, telah digunakan sebagai obat tradisional di Amerika Selatan dan Tengah, Hindia Barat, dan Afrika untuk mengobati tekanan darah tinggi, sakit perut, diare, diabetes, dan perdarahan saat menstruasi (Schaffer dkk, 2013). Biji buah alpukat berpotensi dalam penurunan kadar gula darah (Aigbiremolen dkk, 2018).

Penelitian yang dilakukan (Yanis B dkk, 2021) menunjukkan bahwa daun alpukat dari berbagai daerah mempunyai senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Hasil beberapa penelitian lainnya juga membuktikan bahwa ekstrak daun alpukat mempunyai potensi dalam menghambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (Azzahra dkk, 2019), *Escherichia coli* (Indriani dkk, 2022) serta beberapa bakteri lainnya karena keberadaan senyawa bioaktif yang terdapat di dalam daun alpukat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies fungi endofit yang berasal dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) serta mengevaluasi potensi antibakteri fungi endofit tersebut terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Beberapa peralatan yang digunakan meliputi autoklaf (GEA medical YX-24LDJ), laminar air flow (Nuve LN 120), inkubator (Nuve EN 120), oven (Memmert), erlenmeyer (AGC Iwaki), gelas kimia (AGC Iwaki), gelas ukur (Herma), cawan petri (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki) dan rak tabung, mikroskop (Nikon), paper disk (OXOID), deck glass (Thickness), object glass (OneLab), jarum ose, batang pengaduk, pinset (OneMed), lampu spiritus, pipet tetes (OneMed), spuit (OneMed), cutter, kompor, dan timbangan analitik (Fujitsu). Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Daun alpukat segar, Aquadest, Etanol 75% (Emsure), Kloramfenikol (PT.Bernofarm), Larutan NaOCl 5% (Emplura), Media Nutrient Agar (NA) (Merck), Media Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck), kapas (OneMed), dan swab steril (OneMed).

Prosedur Kerja

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat tua yang segar, diperoleh dari desa Taeng, Kecamatan Pallangga, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan.

Sterilisasi alat

Semua peralatan harus dicuci terlebih dahulu dengan detergen dan kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya, disterilkan dalam oven dengan suhu 160°C selama 2 jam untuk peralatan gelas dan tahan panas, sedangkan, peralatan yang tidak tahan terhadap panas dapat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Alat logam dapat didesinfeksi dengan lampu pijar menggunakan lampu spiritus (Pakadang dkk, 2021).

Pembuatan medium PDA dan NA

Media PDA sebanyak 9,75 gram ditimbang dan dilarutkan dalam 250 ml aquades menggunakan erlenmeyer. Setelah dipanaskan di atas kompor hingga mendidih dan media larut sepenuhnya, media tersebut disumbat dengan kapas dan kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, Antibiotik Kloramfenikol 0,005% ditambahkan ke dalam media PDA sebelum dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan sebelumnya. Sementara itu, Media NA sebanyak 5 gram ditimbang dan dilarutkan dalam 250 ml aquades menggunakan erlenmeyer. Setelah dipanaskan hingga mendidih dan menghasilkan larutan yang jernih, erlenmeyer tersebut disumbat dengan kapas dan juga disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media NA dituangkan langsung ke masing-masing cawan petri dalam keadaan masih cair (Pakadang dkk, 2021).

Penyiapan bakteri uji

Satu inokulum bakteri uji yang terdiri dari *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* yang telah disiapkan, ditanam pada media NA yang miring, dan kemudian diinkubasi selama sekitar 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, satu ose dari kultur bakteri yang telah diperbaharui diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL aquades steril. Tabung reaksi kemudian dikocok hingga homogen (Litaay dkk, 2017).

Isolasi fungi endofit

Daun alpukat segar terlebih dahulu dicuci bersih selama 10 menit dengan air yang mengalir. Selanjutnya, membersihkan permukaan daun dengan cara merendamnya secara berurutan dalam alkohol 75% selama 1 menit, natrium hipoklorit (NaOCl) 5% selama 5 menit, dan alkohol 75% selama 30 detik untuk melakukan sterilisasi. Setelah itu, potongan daun yang telah dikeringkan ditempatkan di dalam cawan petri steril. Potongan daun tersebut kemudian ditanamkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah dicampur dengan kloramfenikol 0,005%, dan kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari (Suhardi dkk, 2023).

Pemurnian isolat fungi endofit

Isolat fungi endofit yang telah berhasil tumbuh pada media PDA, dimurnikan dengan cara melakukan inokulasi ulang koloni tunggal pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi

pada suhu 25°C selama 5 sampai 7 hari. Hasil inkubasi ditemukan beberapa jenis kapang murni berdasarkan pengamatan warna dan bentuk koloni pada media. Setiap koloni dengan warna atau bentuk yang berbeda dikultur kembali berulang-ulang hingga diperoleh isolat koloni murni fungi endofit. Setiap isolat yang didapatkan diberi kode isolat DAT 1 artinya isolat pertama yang diperoleh dari daun alpukat tua dan seterusnya (Suhardi dkk, 2023).

Karakterisasi fungi endofit

Karakterisasi fungi endofit dilakukan berdasarkan pengamatan ciri-ciri makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan secara makroskopik berupa pengamatan terhadap warna, bentuk atas, elevasi, tepi dan diameter isolat murni fungi endofit. Sedangkan pengamatan secara mikroskopis berupa pengamatan terhadap spora, konidia, bentuk dan ukuran hifa dengan menggunakan mikroskop. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan cara : diambil medium PDA dari cawan petri menggunakan jarum ose, potongan agar tersebut dipindahkan secara aseptik ke atas *object glass*. Isolat fungi endofit murni diinokulasikan di atas medium PDA yang ada di atas *object glass* menggunakan jarum ose lalu ditutup menggunakan *deck glass*, preparat tersebut dilembabkan menggunakan gliserin yang ditetesi pada tissue yang digunakan untuk melapisi cawan petri. Kemudian, diinkubasi selama 3-5 hari dengan suhu 25°C. Kemudian diamati bentuk makroskopik dan mikroskopik (Elviasari dkk, 2019).

Uji aktivitas antibakteri fungi Endofit

Fungi endofit dikumpulkan dengan cara dikerok dari permukaan media kemudian ditimbang 0,1 gram lalu disuspensikan dalam 1 ml Dimetil Sulfoksida (DMSO). *Paper disk* direndam di dalam suspensi fungi endofit selama 1 jam, kemudian ditiriskan. Media *nutrient agar* (NA) dituang dalam cawan petri steril dibiarkan hingga memadat. Suspensi bakteri uji *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* disebar di permukaan media menggunakan swab steril secara merata. Selanjutnya *paper disk* yang mengandung bahan uji (masing-masing fungi endofit) diletakkan pada permukaan media secara teratur. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam hingga 2×24 jam. Pengujian dilakukan dengan 4×replikasi (Pakadang dkk, 2021).

Analisis Data

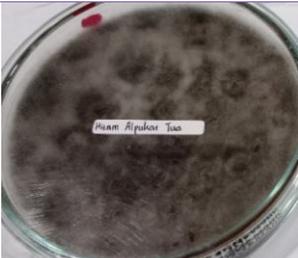
Analisis dilakukan melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik isolat fungi endofit kemudian dibandingkan dengan rujukan pustaka, guna mengidentifikasi kemungkinan jenis isolat. Pengamatan terhadap zona hambatan pertumbuhan dilaksanakan dengan tujuan untuk mengevaluasi aktivitas isolat fungi endofit terhadap bakteri uji. Hasil dari data penelitian yang didapatkan dari pengamatan atau pengukuran zona hambatan ditabulasikan lalu dirata-ratakan kemudian dianalisis dengan menggunakan statistik dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Guna menguji aktivitas antibakteri yang paling optimal di antara jenis isolat fungi endofit dari daun alpukat, dilakukan analisis statistik melalui uji *Post hoc*. Persyaratan utama meliputi distribusi data yang bersifat normal dan homogen. Jika data hasil penelitian tidak memenuhi syarat distribusi normal dan homogenitas atau nilai signifikansinya kurang dari 0,05 (sig<0,05), maka dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann Whitney*. Uji *Mann Whitney* dilakukan guna mengetahui perbedaan potensi antibakteri isolat fungi endofit satu dengan lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fungi endofit yang diperoleh dari daun alpukat merupakan fungi endofit murni yang berasal dari dalam jaringan daun tersebut. Sebelum ditanamkan pada media PDA, daun alpukat telah menjalani proses sterilisasi pada permukaannya. Tujuan sterilisasi adalah untuk menghilangkan mikroorganisme epifit yang melekat pada permukaan daun menggunakan alkohol 75% dan natrium hipoklorit 5%. Alkohol digunakan untuk merusak lapisan membran sel mikroorganisme, sementara alkohol juga melarutkan dan mendenaturasi protein yang terdapat pada membran sel tersebut. Hal ini menyebabkan lisis sel mikroorganisme karena fungsi membran sel dalam mengatur transportasi cairan terganggu. Alkohol biasanya dikombinasikan dengan natrium hipoklorit karena alkohol memiliki keterbatasan dalam mensterilkan permukaan organ tanaman. Natrium hipoklorit diketahui

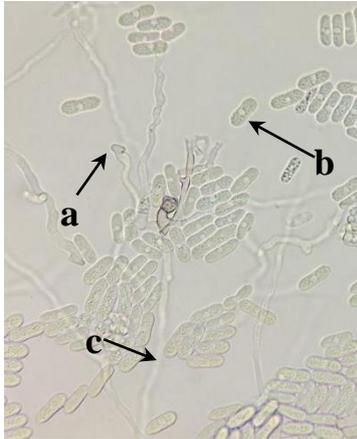
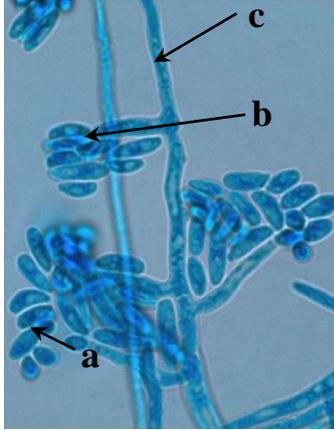
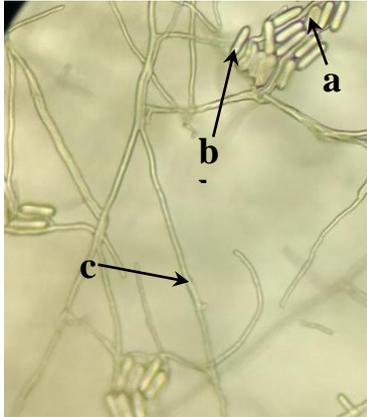
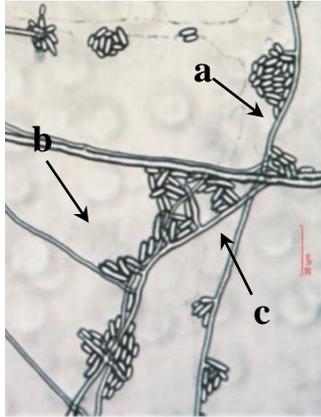
memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel mikroorganisme dengan mengganggu proses oksidasi enzim-enzim penting. Hal ini mengakibatkan gangguan fungsi sel mikroorganisme sehingga mereka tidak dapat tumbuh dengan normal (Brown dkk, 2019).

Tabel I. Ciri Makroskopik Isolat Fungi Endofit Daun Alpukat

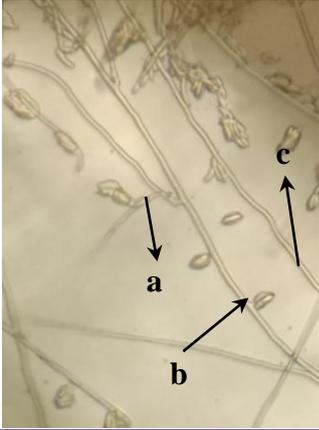
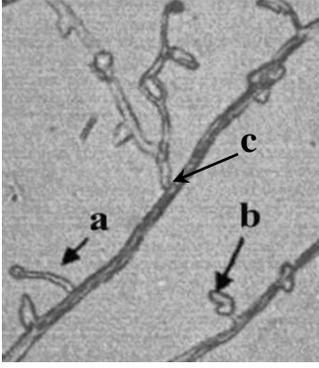
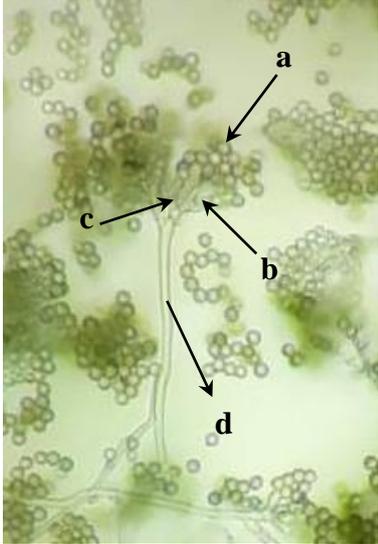
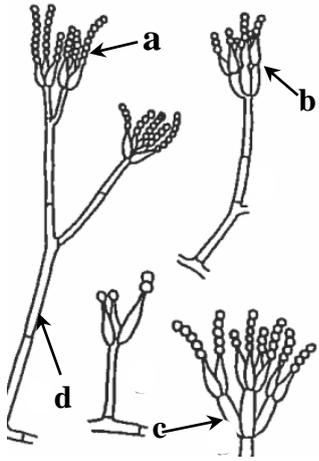
Isolat	Makroskopik	Deskripsi
DAT 1		Koloni berwarna abu-abu bentuk koloni menyebar. Permukaan koloni seperti kapas putih yang lama kelamaan jadi abu-abu
DAT 2		Koloni berwarna jingga kecoklat-coklatan bentuk koloni menyebar. Tekstur koloni berlendir saat digores.
DAT 3		Koloni berwarna hitam dengan beludru putih yang selanjutnya berubah menjadi abu-abu, bentuk koloni bulat sebaran memusat dan tekstur permukaan tebal seperti kapas.
DAT 4		Koloni berwarna ungu dengan pinggir koloni berwarna putih, koloni menyebar ke segala arah dengan bagian bawah koloni berwarna merah bata
DAT 5		Koloni berwarna hijau tua, pertumbuhannya menyebar ke segala arah dan memiliki tepi permukaan yang halus dan teratur

Hasil isolasi fungi endofit dari daun alpukat segar diperoleh sebanyak lima isolat fungi endofit. Tabel I dan Tabel II menunjukkan hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik dari kelima isolat fungi endofit daun alpukat.

Tabel II. Karakteristik Isolat Fungi Endofit dari Daun Alpukat secara Mikroskopik

Isolat	Hasil pengamatan	Pustaka (yang diduga)	Deskriptif
DAT 1		 <i>Fusarium</i> sp. (Chenaoui dkk, 2017)	<ul style="list-style-type: none"> a. Mikrokonidia berbentuk bulat telur b. Makrokonidia berbentuk agak lonjong c. Hifa tidak bersekat
DAT 2		 <i>Fusarium</i> sp. (Kalman dkk, 2020)	<ul style="list-style-type: none"> a. Mikrokonidia berbentuk bulat telur b. Makrokonidia berbentuk agak lonjong c. Hifa tidak bersekat
DAT 3		 <i>Aureobasidium pullulans</i> (Sumber : www.adelaide.edu.au)	<p>Terdiri dari sel tunggal atau membentuk hifa dengan septum, strukturnya berbentuk kapsul atau bulat, dan bercabang-cabang</p>

Lanjutan Tabel II...

Isolat	Hasil pengamatan	Pustaka (yang diduga)	Deskriptif
DAT 4		 <i>Fusarium oxysporum</i> (Sutejo dkk, 2008)	a. Konidiofor dengan tangkai pendek yang pada bagian ujungnya terikat 3-4 mikronidium b. Mikronidium c. Hifa, tipis dan panjang seperti benang, hifa tidak bersepta
DAT 5		 <i>Penicillium</i> sp. (Barnett dan Hunter, 1998)	a. Konidia berukuran kecil berbentuk bulat telur b. Fialid c. Metula d. Konidiofor

Isolat fungi endofit yang berhasil diperoleh dari daun alpukat tua sebanyak 5 isolat yaitu isolat DAT1, isolat DAT2, isolat DAT3, isolat DAT4, dan isolat DAT5. Berdasarkan pengamatan makroskopik dan mikroskopik dari isolat DAT1 dan isolat DAT2 diduga kedua isolat tersebut merupakan *Fusarium* sp. Secara makroskopik dari kedua isolat tersebut memang tampak berbeda tetapi secara mikroskopik didapatkan hasil pengamatan yang sama. Berdasarkan pernyataan dari Minarni dkk, (2021) yang menyebutkan bahwa beberapa isolat *Fusarium* sp. mampu membentuk koloni dengan warna yang berbeda walaupun ditumbuhkan pada media yang sama. Ketika isolat menghasilkan sporodokium dalam jumlah yang lebih besar, koloni akan mengalami perubahan warna menjadi jingga. Sedangkan, secara mikroskopik hasil pengamatan dari kedua isolat tersebut tampak hifa tipis dan mempunyai percabangan. Selain itu, terdapat mikrokonidia dan makrokonidia yang berbentuk bulat dan agak lonjong. Secara umum morfologi *Fusarium* sp. memiliki hifa yang bersekat/tidak bersekat dengan konidiofor pendek/panjang serta memiliki mikrokonidia dan makrokonidia berbentuk bulat atau lonjong (Minarni dkk, 2021)

Isolat DAT3 yang diisolasi dari daun alpukat tua setelah 5 hari tampak koloni berwarna hitam dengan beludru putih yang selanjutnya berubah menjadi abu-abu, bentuk koloni bulat sebaran memusat dan tekstur permukaan tebal seperti kapas. Hasil pengamatan mikroskopik untuk isolat DAT3 terdiri dari sel tunggal atau strukturnya berbentuk kapsul atau bulat, dan memiliki banyak percabangan. Isolat DAT3 diduga merupakan *Aureobasidium pullulans*. Penelitian yang dilakukan Jang dkk, (2018) menunjukkan bahwa secara makroskopik *Aureobasidium pullulans* tampak

berwarna coklat tua hingga hitam dengan tekstur halus hingga kasar. Selain itu, secara mikroskopik *Aureobasidium pullulans* tampak mempunyai sel-sel yang berbentuk oval atau bulat.

Isolat DAT4 yang diisolasi dari daun alpukat tua setelah 5 hari tampak koloni awalnya berwarna putih lalu berubah warna menjadi ungu dengan pinggir koloni berwarna putih, koloni menyebar ke segala arah dengan bagian bawah koloni berwarna merah bata. Penampakan secara mikroskopik dari isolat DAT4 memiliki hifa, tipis dan panjang seperti benang, hifa tidak bersepta, mempunyai konidiofor dengan tangkai pendek yang pada bagian ujungnya terikat 3-4 mikronidium yang berbentuk bulat. Isolat DAT4 diduga merupakan *Fusarium oxysporum*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sari dkk. (2018) yaitu meskipun dominan berwarna putih, beberapa isolat *Fusarium oxysporum* dapat menunjukkan variasi warna koloni seperti merah muda, ungu muda, dan krem. Secara mikroskopik *Fusarium oxysporum* tampak memiliki miselium yang bersifat hialin, dengan konidiofor pendek serta mempunyai makrokonidia yang mempunyai bentuk seperti sabit atau memanjang dimana pada bagian ujungnya tumpul sedangkan mikrokonidia berbentuk bulat dan jumlahnya tidak banyak (Afriani and Heviyanti 2018).

Isolat DAT5 yang berasal dari daun alpukat tua menunjukkan pertumbuhan koloni setelah 5 hari. Awalnya, koloni tampak berwarna putih, namun kemudian mengalami perubahan warna menjadi hijau hingga hijau tua. Pertumbuhannya menyebar ke segala arah dan memiliki tepi permukaan yang halus dan teratur. Sedangkan, secara mikroskopik tampak memiliki konidia berbentuk bulat atau bulat telur, memiliki field serta metula, memiliki konidiofor bercabang di dekat puncak (Barnett and Hunter 1998). Berdasarkan ciri tersebut isolat DAT5 diduga merupakan *Penicillium* sp. Berdasarkan identifikasi dari Ristiari dkk, (2018) *Penicillium* sp. awalnya memiliki warna putih yang kemudian mengalami perubahan menjadi hijau. Pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa *Penicillium* sp. memiliki hifa yang transparan (hialin), konidia yang berbentuk bulat dan terdiri dari satu sel, serta fialid yang terkumpul dengan konidiofor yang bercabang.

Isolat jamur endofit dari daun alpukat selanjutnya dilakukan pengujian terhadap mikroba uji yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Pengujian dilakukan bertujuan untuk melihat potensi antimikroba dari masing-masing isolat. Pengamatan zona bening di sekitar cakram kertas menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada isolat fungi endofit yang diuji. Hasil pengukuran zona hambatan dari kelima isolat fungi endofit tersebut disajikan pada Tabel III dan Tabel IV, sedangkan analisis datanya disajikan pada tabel V dan tabel VI.

Tabel III. Evaluasi Ukuran Zona Hambat Isolat Fungi Endofit dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Escherichia coli*

Sampel	Perlakuan	Diameter Zona Hambatan (mm)			Total	Rata-rata±SD
		Inkubasi 1 × 24 Jam Pada Setiap Replikasi				
		1	2	3		
<i>Escherichia coli</i>	Isolat DAT1	9	10	8	27	9 ±1,000
	Isolat DAT2	9	9	10	28	9,333 ±0,577
	Isolat DAT3	8	7	8	23	7,6667 ±0,577
	Isolat DAT4	7,5	7	8	22,5	7,5 ±0,500
	Isolat DAT5	7	9	8	24	8 ±1,000
	Kontrol negatif	0	0	0	0	0

Tabel IV. Evaluasi Ukuran Zona Hambat Isolat Fungi Endofit dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Salmonella typhi*

Sampel	Perlakuan	Diameter Zona Hambatan (mm)			Total	Rata-rata±SD
		Inkubasi 1 × 24 Jam				
		1	2	3		
<i>Salmonella typhi</i>	Isolat DAT1	7	8	8	23	7,6667 ±0,577
	Isolat DAT2	9	8,5	8	25,5	8,5 ±0,500
	Isolat DAT3	8	8	7,5	23,5	7,8333 ±0,288
	Isolat DAT4	8,5	8	10	26,5	8,8333 ±1,040
	Isolat DAT5	15,5	8	8	31,5	10,5 ±4,330
	Kontrol negatif	0	0	0	0	0

Tabel V. Hasil Analisis *Mann Whitney* Isolat Fungi Endofit Daun Alpukat terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Bakteri Uji	Kode Isolat	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min.	Max
<i>Escherichia coli</i>	Isolat DAT1	3	9,000	1,0000	9,000 ^a	8,0	10,2
	Isolat DAT2	3	9,333	0,5774	9,000 ^{ab}	9,0	10,0
	Isolat DAT3	3	7,667	0,5774	8,000 ^{abc}	7,0	8,0
	Isolat DAT4	3	7,500	0,5000	7,500 ^{acd}	7,0	8,0
	Isolat DAT5	3	8,000	1,0000	8,000 ^{abcde}	7,0	9,0
	Kontrol negatif	3	0,000	0,0000	0,0000	0,0	0,0

Superscript^{abcde} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda secara signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*

Tabel VI. Hasil Analisis *Mann Whitney* Isolat Fungi Endofit Daun Alpukat terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*

Bakteri Uji	Kode Isolat	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min.	Max
<i>Salmonella typhi</i>	Isolat DAT1	3	7,667	0,5774	8,000 ^a	7,0	8,0
	Isolat DAT2	3	8,500	0,5000	8,500 ^{ab}	8,0	9,0
	Isolat DAT3	3	7,633	0,2887	8,000 ^{abc}	7,5	8,0
	Isolat DAT4	3	8,833	1,0408	8,500 ^{abcd}	8,0	10,0
	Isolat DAT5	3	10,500	4,3301	8,000 ^{abcde}	8,0	15,5
	Kontrol negatif	3	0,000	0,0000	0,000	0,0	0,0

Superscript^{abcde} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda secara signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*

Hasil pengamatan memperlihatkan terbentuknya zona hambatan dari isolat fungi endofit daun alpukat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Hasil pengujian terhadap *Escherichia coli* diperoleh isolat yang memberikan diameter zona hambatan yang paling optimal adalah isolat DAT2 sebesar 9,3333 mm. Isolat yang memberikan diameter zona hambatan yang paling optimal terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* adalah isolat DAT5 sebesar 10,5 mm.

Fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman, seperti daun alpukat, memiliki potensi untuk mensintesis metabolit sekunder yang mirip atau bahkan identik dengan metabolit sekunder

yang dihasilkan oleh tanaman inangnya. Dengan demikian, ada kemungkinan besar bahwa metabolit sekunder yang ditemukan dalam ekstrak daun alpukat juga dihasilkan oleh isolat fungi endofit yang diisolasi dari jaringan yang sama (Rollando, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh (Tuldjanah dkk, 2022) menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan dalam ekstrak etanol daun alpukat adalah flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Flavonoid memiliki peran sebagai agen antibakteri melalui tiga mekanisme yang berbeda, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Sedangkan, alkaloid dapat berperan sebagai agen antibakteri melalui beberapa mekanisme yang berbeda, termasuk inhibisi sintesis dinding sel bakteri, penghambatan sintesis protein bakteri, dan penghambatan DNA *gyrase*. Selain itu, alkaloid juga dapat mengganggu membran sel bakteri dan menghasilkan radikal bebas yang merusak struktur sel bakteri (Ma dkk, 2019). Fungsi tanin adalah sebagai agen antimikroba dengan mekanisme menghambat adhesin pada sel mikroba, menginaktivasi enzim, dan mengganggu transpor protein pada lapisan sel. Selain itu, tanin memiliki sasaran pada polipeptida yang membentuk dinding sel, menghasilkan pembentukan dinding sel yang tidak optimal. Akibatnya, sel bakteri mengalami lisis karena tekanan osmotik dan fisik yang tidak seimbang, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri (Dheer dkk, 2021).

KESIMPULAN

Isolat fungi endofit daun alpukat tua yang berhasil diperoleh sebanyak 5 isolat diantaranya Isolat DAT1, Isolat DAT2, isolat DAT3, isolat DAT4 dan isolat DAT5. Hasil pengujian aktivitas antibakteri didapatkan diameter zona hambat yang paling optimal adalah isolat DAT2 sebesar 9,3333 mm terhadap *Escherichia coli* dan isolat DAT5 sebesar 10,5 mm terhadap *Salmonella typhi*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa biokimia apa yang terkandung dalam fungi endofit daun alpukat dan untuk mengetahui jenis spesies dari masing-masing isolat fungi endofit dari daun alpukat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, A. and Heviyanti, M. (2018) Karakteristik Jamur *Fusarium Oxysporum* F. Sp. Cepae Penyebab Busuk Umbi Pada Bawang Merah (*Allium ascalonicum*), 1, 70–74
- Aigbiremolen, A., Ativie, R., Aisuodionoe, M., Odigie, O., Igweh, J., and Egwaoje, M. (2018) Effect of Aqueous Extract of *Persea americana* Seed on Blood Glucose in Alloxan-induced Diabetic Wistar Rats. *Asian Journal of Medicine and Health*, 9 (3), 1–10.
- Azzahra, F., Arefadil Almalik, E., and Atkha Sari, A. (2019) Uji Aktivitas Anti Bakteri dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Akfarindo*, 4 (2), 1–10.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998) *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*, 4th Edition, APS Press, St. Paul, 218 p.
- Bhim Pratap Singh. (2019) *Advances in Endophytic Fungal Research : Present Status and Future Challenges*. Springer
- Brown, Sarah. (2019) Synergistic Effects of Alcohol and Sodium Hypochlorite in Disinfection. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 15, no. 2, 2019, pp. 89-96.
- Chenaoui, M., Amar, M., Benkhemmar, O., Aissami, A. El, Arahou, M., and Rhazi, L. (2017) Isolation and characterization of fungi from sugar beet roots samples collected from Morocco. *Article in Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8 (11), 3962–3967.
- Indrawati, A., Hartih, N.A., and Muyassara, M. (2019) Isolasi dan Uji Potensi Fungi Endofit Kulit Batang Langsung (*Lansium domesticum* Corr.) Penghasil Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Media Farmasi*, 15 (1), 36.
- Indriani, Z., Indah Lestari, K., Wahyuni Gayatri, S., and Faisal Syamsu, R. (2022) Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Fakumi Medical Journal*, 2 (2).

- Jang, S., Park, H. S., & Choi, S. J. (2018) Morphological and molecular characterization of *Aureobasidium pullulans* isolatd from soil in Korea. *Mycobiology*, 46(2), 139-143.
- Kalman, B., Abraham, D., Graph, S., Perl-Treves, R., Harel, Y.M., and Degani, O. (2020) Isolation and Identification Of *Fusarium* Spp., The Causal Agents Of Onion (*Allium Cepa*) Basal Rot In Northeastern Israel. *Biology*, 9 (4).
- Katrin, D., Idiawati, N., Sitorus, B., and Hadari Nawawi, J.H. (2015) Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea gracieae* Vidal) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, 4 (1), 7–12.
- Kumar, K. K., & Dara, S. K. (2021) Fungal and Bacterial Endophytes as Microbial Control Agents for Plant-Parasitic Nematodes. *International journal of environmental research and public health*, 18(8), 4269.
- Litaay, M., Sari, K., Gobel, R.B., and Haedar, N. (2017) The Potencial of Tropical Abalone *Haliotis asinina* L. As Source of Mushroom Antimicroba Producing Symbionts. *Spermonde*, 3 (1), 42–46.
- Ma, Y., & Chen, J. (2019) *Antimicrobial Alkaloids: From Isolation to Genomic Mining*. *Marine drugs*, 17(11), 625.
- Mikroskopik *Aureobasidium pullulans*, diperoleh melalui situs internet: <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds/aureobasidium>. Diakses pada tanggal 20 Juni 2023
- Minarni, Hasanuddin, and Ginting, J. (2021) Morphological characteristic of *Fusarium* spp. In several highlands of North Sumatera. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing Ltd.
- Nasicha, A.Z. (2018) Eksplorasi, Potensi Dan Konservasi Mikroba Endofit. *Biologi, Sains, Lingkungan dan Pembelajarannya*, (2000), 1–5.
- Pakadang, S.R., Marsus, I., and Ihsanawati (2021) Antibacterial Activity of Endophytic Fungus Isolates of Mangrove Fruit (*Sonneratia alba*) Against *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*. *Jurnal Info Kesehatan*, 19 (1), 55–63.
- Ristiari, N.P.N., Julyasih, K.S.M., and Suryanti, I.A.P. (2018) Isolasi dan Identifikasi Jamur Mikroskopis Pada Rizosfer Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) di Kecamatan Kintamani, Bali. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiskha*, 6 (1).
- Rollando. (2019) *Senyawa Antibakteri Fungi Endofit* (S.R. Wicaksono (ed.); Pertama). Puntadewa.
- Sari, W., Wiyono, S., Nurmansyah, A., Munif, A., & Poerwanto, R. (2018) Keanekaragaman dan Patogenisitas *Fusarium* sp. Asal Beberapa Kultivar Pisang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 13(6), 216.
- Schaffer, B., & Wolstenholme, B. N. (2013) *Avocado: botany, production and uses*. CABI.
- Sadikin, N.A.N., Bintari, siti H., Widiatningrum, T., and Dewi, P. (2021) Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*, 10 (2).
- Sari, W., Wiyono, S., Nurmansyah, A., Munif, A., and Poerwanto, R. (2018) Keanekaragaman dan Patogenisitas *Fusarium* spp. Asal Beberapa Kultivar Pisang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 13 (6), 216.
- Sutejo, A.M., Priyatmojo, A., and Wibowo, A. (2008) Identifikasi Morfologi Beberapa Spesies Jamur *Fusarium* Morphological Identification Of Several *Fusarium* Species. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 14 (1), 7–13.
- Tuldjanah, M., Refanti Fajarizki, G., and Tandji, J. (2022) Penetapan Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, XIX (1).
- Yanis B, Aser Y, Nova L, and Anita C (2021) Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Ilmu Hayati*, 2 (2), 53–62.