

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT YANG BERASOSIASI
DENGAN TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

(Skripsi)

Oleh

**ELMA MUNIKA
NPM 1617011084**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT YANG BERASOSIASI DENGAN TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Oleh

Elma Munika

Tumbuhan turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) termasuk salah satu spesies dalam keluarga Fabaceae yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan bioaktivitas, salah satunya adalah sebagai antibakteri. Senyawa antibakteri pada tumbuhan turi dapat pula dihasilkan oleh fungi yang berasosiasi pada tumbuhan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan turi putih serta dilakukannya uji bioaktivitas antibakteri pada isolat fungi. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yakni isolasi fungi, identifikasi morfologi fungi, kultivasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) serta ekstraksi, isolasi dan pemurnian. Pada penelitian ini berhasil diisolasi 15 fungi yakni 4 dari bagian akar, 6 dari bagian kulit batang, dan 5 dari bagian daun. Sebanyak 15 ekstrak isolat fungi dilakukan skrining bioaktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan 3 isolat fungi yang memiliki potensi sebagai antibakteri yakni EAFT3-1 (kategori kuat), EBFT3-3 (kategori sedang, EBFT3-1 (kategori lemah). Berdasarkan uji bioaktivitas yang telah dilakukan maka dipilih isolat EAFT3-1 untuk dilakukan identifikasi morfologi dan isolasi lebih lanjut. Morfologi isolat fungi EAFT3-1 menunjukkan isolat berwarna putih dan analisis lebih lanjut di bawah mikroskop teramati adanya hifa dan spora pada hari ke2. Kemudian isolat fungi EAFT3-1 diperbanyak dalam media cair PDA dan diekstraksi dengan menggunakan pelarut EtOAc serta didapatkan berat ekstrak sebesar 0,77 gram. Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemurnian dengan teknik kolom kromatografi gravitasi serta dimonitoring dengan KLT dan didapatkan subfraksi Ea sebesar 0,4 mg serta diuji bioaktivitas antibakteri dengan konsentrasi 2 mg/mL yang menunjukkan subfraksi Ea tidak aktif pada bakteri *S. aureus*. Penelusuran fraksi aktif pada ekstrak EAFT3-1 akan di lanjutkan oleh anggota peneliti lain dalam grup riset.

Kata kunci : *S. grandiflora*, fungi endofit, antibakteri, kultivasi, dan *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC FUNGI ASSOCIATED WITH WHITE TURI (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY SCREENING

By

Elma Munika

Sesbania grandiflora (L.) Pers is one species of *Sesbania* belong to Fabaceae family. This plant contain secondary metabolites wich show various bioactivity including antibacterial activity. Antibacterial compounds in the turi plant can also be produced by fungi associated with the plant. This study aims to isolate and to characterize the endophytic fungi associated with white turi and screen their antibacterial activity. This research was conducted in several steps such as isolation of fungi, identification of morphology of fungi, cultivation in media PDA, extraction, isolation and purification of secondary metabolites. The isolation of fungi afforded fifiteen types of fungi including four isolated from roots, six isolated from stem barks, and five isolated from leaves. All isolated fungi were screeed for their antibacterial bioactivity against *Staphylococcus aureus*, only three of them (code EAFT3-1, EBFT3-3, and EBFT3-1) inhibited the growth of bacteria tested EAFT3-1 is the most active, while EBFT3-3 is more active than EBFT3-1. Based on their bioactivity result EAFT3-1 was further purified and identified morphology. Isolated EAFT3-1 was found as white fungi with hyphae and sopre after observation under. Isolated fungi EAFT3-1 was cultivated in media PDA liquid and extracted with EtOAc toget 0.77 gram. Purification of EAFT3-1 with CC was yielded subfraction Ea (0,4 mg). The antibacterial bioactivity of subfraction Ea showed that Ea is inactive against *S. aureus*. However, further study and analysis for the active fraction in the EAFT3-1 extract is still in progress and will be conducted by other researchr's members in the research group.

keyword : *S. grandiflora*, fungi endohpytic, antibacterial, cultivation, and *S. aureus*

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT YANG BERASOSIASI
DENGAN TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

Oleh

ELMA MUNIKA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT YANG BERASOSIASI DENGAN TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

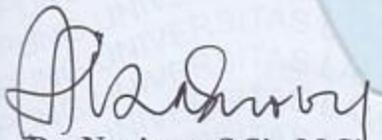
Nama Mahasiswa : ***Elma Munika***

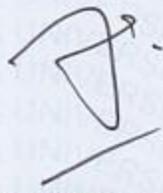
No. Pokok Mahasiswa : 1617011084

Jurusan : Kimia

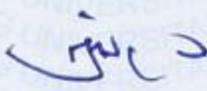
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 197311191998022001


Andi Setiawan, Ph.D.
NIP 195809221988111001

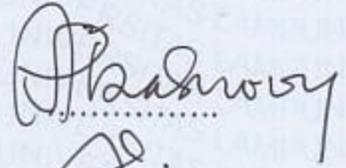
2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, Ph.D.
NIP 1974061120000321002

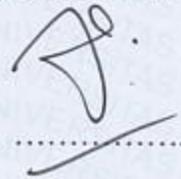
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Andi Setiawan, Ph.D.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 14 Oktober 2021

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Elma Munika
Nomor Pokok Mahasiswa : 1617011084
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul

“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit yang Berasosiasi Dengan Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Serta Uji Aktivitas Antibakteri”

adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 18 November 2021
Yang menyatakan



Elma Munika/
NPM 1617011084

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Sukosari, Lampung Tengah pada tanggal 26 Maret 1997, sebagai anak ke dua dari lima bersaudara, dari pasangan Bapak Karlam dan ibu Mujiati.

Penulis mengawali pendidikan formal di Sekolah Dasar (SD) di SDN 02 Sukosari yang diselesaikan pada tahun 2009, melanjutkan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 01 Kalirejo yang diselesaikan pada tahun 2012 dan menempuh pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di MA Ma'arif 04 Kalirejo yang selesai pada tahun 2016. Pada tahun 2016 penulis diterima sebagai mahasiswa di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis memiliki pengalaman organisasi yaitu Kader Muda Himaki periode 2016-2017, anggota Biro Usaha Mandiri Himaki periode 2016-2018 dan menjadi anggota Rohani Islam (Rois) FMIPA periode 2016. Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Dasar untuk jurusan Fisika, dan praktikum Kimia Organik 1 untuk jurusan Biologi pada tahun 2019, serta Praktikum Kimia Organik 2 untuk jurusan Kimia pada tahun 2020.

Penulis melaksanakan program Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Gunung Sadar, Kecamatan Abung Tengah, Kabupaten Lampung Utara pada bulan Juli-Agustus 2019.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*“Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi
Maha Pengasih lagi Maha Penyayang”*

*Kedua orang tuaku,
Bapak Karlam dan Ibu Mujiati yang telah menyayangi,
merawat, mendidik, mengajarkan kebaikan dengan tulus dan
selalu mendo’akan keberhasilanku dalam setiap sujudnya.*

*Kakak serta adik-adikku yang selalu memberikan semangat
dan do’a yang terbaik.*

*Pembimbing penelitianku Ibu Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Bapak
Andi Setiawan, Ph.D., Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. Terima
kasih atas ilmu, nasihat, dan kesabarannya dalam membimbing
selama ini.*

*Segenap Dosen dan staff akademika yang telah mendidik dan
memberi teladan baik selama menempuh pendidikan sarjana*

*Sahabat dan teman-temanku yang saling memberi semangat
dan kebahagiaan*

Almamater Tercinta Universitas Lampung

MOTTO

" Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai kesanggupannya."
(Q.S. Al-Baqarah : 286)

"Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah
diusahakannya"
(Q.S. An-Najm : 39)

"Selama ada niat, usaha dan keyakinan apa yang semula terasa tidak
mungkin akan menjadi mungkin "
(Penulis)

SANWACANA

Alhamdulillah *rabbi* *'alamin*, segala puji hanya bagi Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit yang Berasosiasi Dengan Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Serta Uji Aktivitas Antibakteri”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak luput dari do'a, dukungan, serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Penyemangat terbesar dalam hidup, Bapak Karlam dan Ibu Mujiati. Terima kasih atas didikan terbaiknya, kasih sayang, dukungan, do'a, motivasi, dan semua yang terbaik kepada penulis hingga saat ini. Semoga Allah SWT membalas ibu dan bapak dengan limpahan kebaikan dunia dan akhirat, dan semoga Allah kumpulkan keluarga kita di surga-Nya kelak.
2. Terimakasih untuk kakakku tersayang Dedi Sudrajat (Alm) dan adik-adikku tersayang Imam Fajeri Ali, Karunia Agus Prihatin dan David Fauzan yang selalu mendo'akan, memberikan dukungan, canda dan tawa kepada penulis. Semoga Allah senantiasa memberikan kebaikan dan keberkahan kepada kalian.
3. Ibu Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku pembimbing I yang telah sabar membimbing, memotivasi, dan memberikan semangat sehingga penelitian dan penulisan skripsi penulis dapat terselesaikan. Semoga Allah memberikan keberkahan dan kebaikan kepada beliau dunia dan akhirat.

4. Bapak Andi Setiawan, Ph.D., selaku pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan, motivasi dan semangat yang telah diberikan. Semoga Allah memberikan keberkahan dan membalas kebaikan beliau.
5. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku pembahas yang banyak memberikan masukan positif dan membangun dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Terima kasih kepada seluruh dosen Jurusan Kimia atas ilmu yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini dengan baik, serta terima kasih kepada staff administrasi jurusan Kimia yang telah membantu persyaratan administrasi selama kuliah. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan kalian.
9. Sahabat seperjuangan sedari MABA Novita Andriyani, Habibah Monanisa Rhestiani, dan Putri Kuswedari. Terima kasih sudah menjadi pendengar segala keluh kesah dan penyemangat dalam menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa memberikan kebaikan kepada kalian.
10. Sahabat sejak SMA Niarotul Anjumi dan Tika Ayu Fitriyani dan sahabat sejak SMP Fauziah Caesar Ranii dan Via Andriyani yang selalu memberikan semangat dari jauh. Semoga kalian selalu dalam lindungan Allah.
11. Rekan-rekan NRG Azizah, Aulia, Habibah, Uswatun, Candra, Kak arif, Dita dan Feni yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
12. Rekan seperjuangan perkuliahan khususnya angkatan 2016 atas segala bantuan dan motivasi, semoga Allah mempermudah segala urusan dan memberikan karir terbaik untuk kalian.
13. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam penulisan skripsi, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah membalas kebaikan dengan berkali-kali kebaikan dan kemudahan atas urusannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi masih banyak terdapat kesalahan, akan tetapi penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi orang banyak dan khususnya bagi yang membacanya.

Bandar Lampung, 18 November 2021

Penulis,

Elma Munika

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Fabaceae	5
B. <i>Sesbania grandiflora</i>	6
C. Kegunaan dan Efek Farmakologi dari <i>S. grandiflora</i>	7
D. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder pada Famili Fabaceae	8
E. Senyawa yang Telah Diisolasi dari <i>Sesbania grandiflora</i>	10
F. Fungi.....	12
1. Pembentukan Hifa dan Miselium	12
2. Struktur dan Bagian yang Berproduksi.....	12
G. Fungi Endofit	13
H. Bakteri	14
I. Antibakteri	15

J. Kultivasi.....	15
K. Ekstraksi	16
L. Partisi.....	16
M. Skrining Uji Bioaktivitas	17
N. Metode Pemisahan dan Pemurnian	17
1. Kromatografi Lapis Tipis.....	17
2. Kromatografi Kolom (KK)	18
III. METODE PENELITIAN	19
A. Waktu dan Tempat Penelitian	19
B. Alat dan Bahan.....	19
1. Alat-alat yang digunakan	19
2. Bahan-bahan yang digunakan	20
C. Prosedur Penelitian.....	20
1. Biomaterial.....	20
2. Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	20
3. Isolasi Fungi Endofit yang Berasosiasi dengan <i>S. grandiflora</i>	21
4. Pemurnian Fungi Endofit yang Berasosiasi dengan <i>S. grandiflora</i>	21
5. Karakterisasi Fungi Endofit	22
6. Kultivasi Fungi dari <i>S. grandiflora</i>	22
7. Ekstraksi Senyawa Bioaktif	22
8. Skrining Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	23
9. Uji Skrining Bioaktivitas Antibakteri.....	23
10. Kromatografi Kolom (KK)	24
11. Analisis Kemurnian	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
A. Biomaterial.....	26
B. Isolasi Fungi yang Berasosiasi dengan <i>S. grandiflora</i>	26
C. Ekstraksi dan Skrining Uji Bioaktivitas Antibakteri.....	28
D. Identifikasi Morfologi fungi EAFT3-1.....	32

E. Kultivasi, Isolasi dan Pemurnian fungi EAFT3-1	34
F. Fraksi E, F, dan G	38
V. SIMPULAN DAN SARAN	44
A. Simpulan	44
B. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Ciri-ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	14
Tabel 2. 15 Isolat Fungi Endofit dari Tumbuhan <i>S. grandiflora</i>	27
Tabel 3. Nilai turbiditas dari uji skrining antibakteri	31
Tabel 4. Morfologi Makroskopik Isolat EAFT3-1	32
Tabel 5. Massa fraksi utama	37
Tabel 6. Nilai turbiditas uji aktivitas antibakteri	42

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1 . Bagian-bagian dari tumbuhan turi (a) Batang, (b) Daun, (c) Bunga, dan (d) Biji.....	7
Gambar 2. Senyawa diterpen yang telah diisolasi dari Fabaceae (Linn <i>et al.</i> , 2005) .	9
Gambar 3. Senyawa fenolik yang diisolasi dari tumbuhan Fabaceae (Bekker <i>et al.</i> , 2006, Zhao <i>et al.</i> , 2004).....	9
Gambar 4. Senyawa isoflavonoid yang diisolasi dari bagian akar (Hasan <i>et al.</i> , 2012)	10
Gambar 5. Senyawa isoflavonoid yang diisolasi dari bagian akar (Noviany <i>et al.</i> , 2012)	11
Gambar 6. Senyawa 2-aril benzofuran dari kulit batang tumbuhan turi (Noviany <i>et al.</i> , 2018, 2021).....	11
Gambar 7. Morfologi fungi.....	13
Gambar 8. Lima belas isolat fungi endofit hasil pemurnian fungi endofit dari tumbuhan turi putih.....	28
Gambar 9. Hasil uji skrining bioaktivitas antibakteri menggunakan bakteri <i>S. aureus</i>	29
Gambar 10. Reaksi resazurin menjadi resofurin	31
Gambar 11. Morfologi isolat fungi EAFT3-1	33
Gambar 12. Partisi ekstrak EAFT3-1	35

Gambar 13. Ekstrak kasar etil asetat fungi EAFT3-1	35
Gambar 14. Hasil kromatogram KLT EAFT3-1 dari ekstrak etil asetat dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksan (4:6).....	36
Gambar 15. Proses KKG (Pengelusian sampel)	36
Gambar 16. Kromatogram KLT 13 fraksi dari gabungan hasil KKG dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana (5:5)	37
Gambar 17. Kromatogram E, F, dan G hasil 1x rekristalisasi dengan eluen kloroform:aseton (95:0,5)	38
Gambar 18. Kromatogram fraksi E, F, dan G hasil dari rekristalisasi dengan eluen DCM:aseton (95:0,5).....	38
Gambar 19. Kromatogram subfraksi Ea dengan eluen DCM:aseton (9:1).....	39
Gambar 20. Endapan subfraksi Ea	40
Gambar 21. Hasil uji skrining bioaktivitas antibakteri pada subfraksi Ea dan ekstrak kasar EAFT3-1	40

LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Pembuatan media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	57
Lampiran 2. Diagram alir penelitian	57
Lampiran 3. Gambar lima belas isolat fungi	60
Lampiran 4. Hasil identifikasi atau determinasi tumbuhan turi putih.....	63

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dewasa ini penyakit yang disebabkan oleh infeksi masih menempati urutan teratas penyebab kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2011). Infeksi dapat disebabkan bakteri, jamur, virus, dan parasit (Gould and Brooker, 2003). Jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi antara lain yakni *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus dikenal sebagai bakteri patogen yang paling sering menjadi penyebab infeksi penyakit diantaranya sepsis luka pasca-operasi (Ako-Nai *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Dirga *et al.*, (2021) sepsis menduduki urutan ketiga dalam kejadian infeksi bakteri yakni 63 (20,1%) dari 168 sampel yang telah di uji. Berdasarkan hasil observasi yang telah dilakukan di 34 provinsi di Indonesia pada tahun 2013-2016 ditemukan pasien yang menderita sepsis sebanyak 14.076 pasien dengan tingkat keselamatan 61,8% (Purba *et al.*, 2019) Infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen dapat diobati dengan mengkonsumsi antibiotik. Pada awal ditemukannya antibiotik, angka kematian yang disebabkan oleh penyakit infeksi menjadi berkurang (Inglis, 2003). Adapun persepsan yang tinggi dan kurang bijaknya pemberian antibiotik terhadap hasil diagnosis penyakit menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi bakteri yang semula bersifat sensitif (Kementerian Kesehatan RI, 2011)

Gejala resistensi bakteri terhadap beberapa jenis antibiotik hingga kini masih menjadi permasalahan global. Lebih dari 50% bakteri *Staphylococcus aureus* di Amerika telah mengalami resistensi terhadap antibiotik, sehingga perlu adanya jenis antibiotik baru yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang resisten tersebut (Tacconelli *et al.*, 2018). Kecenderungan resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi alasan dilakukannya berbagai upaya untuk mengatasi permasalahan bakteri resisten yakni dengan memanfaatkan sumber bahan alam.

Salah satu sumber bahan alam yang dilaporkan memiliki potensi sebagai penghasil bahan aktif antibakteri adalah tumbuhan famili Fabaceae. Famili Fabaceae memiliki kandungan metabolit sekunder yang menunjukkan bioaktivitas yang menarik seperti antioksidan (Doddola *et al.*, 2008), antimalaria (Hawas *et al.*, 2012), antibakteri dan antijamur (Goun *et al.*, 2003).

Tumbuhan turi (*Sesbania grandiflora*) merupakan salah satu spesies yang termasuk dalam famili Fabaceae. Salah satu hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Padmalochana and Rajan (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun turi memiliki aktivitas antijamur yang baik. Keaktifan tersebut diduga disebabkan adanya senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tumbuhan turi.

Senyawa bioaktif secara umum diperoleh dari suatu jaringan tanaman melalui teknik ekstraksi menggunakan pelarut tertentu pada bagian tanaman yang diinginkan dalam jumlah banyak. Cara ini terbilang kurang efektif, karena apabila suatu tanaman yang berpotensi obat secara terus menerus diambil untuk diekstrak senyawa bioaktifnya maka ketersediaan tanaman tersebut di lingkungan akan menurun. Cara efisien untuk mendapatkan senyawa bioaktif tersebut yakni dengan memanfaatkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman inangnya, sehingga tidak harus mengekstrak secara langsung (Simarmata *et al.*, 2007).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa fungi endofit dapat memberikan manfaat positif pada tanaman inang. Sekitar 70-100% fungi endofit dapat ditemukan pada berbagai tanaman antara lain daun, batang, pucuk, dan akar (Hakim, 2015). Fakta tersebut menjadi dasar untuk dilakukannya isolasi senyawa bioaktif dari fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan turi putih. Skrining aktivitas antimikroba fungi endofit yang berasosiasi pada daun dan batang tumbuhan turi telah dilakukan oleh Powthong *et al.*, (2013). Dari hasil penelitiannya dilaporkan bahwa beberapa isolat fungi endofit pada daun dan ranting dari tumbuhan turi tersebut berpotensi sebagai antibakteri dan antijamur.

Berdasarkan pemaparan di atas, maka akan dilakukan penelitian kimia fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan turi (*S. grandiflora*) dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakterinya. Senyawa metabolit sekunder dari fungi endofit yang berasosiasi dengan turi dapat diperoleh melalui beberapa tahapan meliputi isolasi, ekstraksi, dan skrining uji bioaktivitas.

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengisolasi fungi endofit dari tumbuhan *S. grandiflora*.
2. Menguji dan skrining aktivitas antibakteri ekstrak fungi endofit dari tumbuhan *S. grandiflora*.
3. Mengisolasi metabolit sekunder dari fungi endofit dari tumbuhan *S. grandiflora*.
fungi endofit dari tumbuhan turi putih.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan akan menambah informasi mengenai jenis fungi endofit dan senyawa metabolit sekunder yang berasosiasi dengan tumbuhan *S. grandiflora*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Fabaceae

Fabaceae merupakan salah satu jenis keluarga tumbuhan yang memiliki sifat kosmopolitan yakni tumbuhan yang dapat dijumpai pada daerah yang bersuhu dingin sekali sampai hangat, subtropis dan tropis (Indrianto, 2012). Fabaceae termasuk dalam keluarga tumbuhan terbesar ketiga (setelah Orchidaceae dan Asteraceae) yang termasuk dalam divisi Angiospermae atau tumbuhan berbunga. Famili Fabaceae dikelompokkan ke dalam tiga subfamili yaitu Mimosoideae, Caesalpinioideae, dan Papilionoideae. Famili Fabaceae terdiri atas 730 genus dan mencakup 19.400 spesies. Lima genus terbesarnya adalah *Astragalus* (lebih dari 2000 spesies), *Acacia* (lebih dari 900 spesies), *Indigofera* (lebih dari 700 spesies), *Crotalaria* (600 spesies), *Mimosa* (500 spesies). Tumbuhan ini umumnya memiliki ciri buah berbentuk polong, dengan perawakan beragam yakni herba, perdu, liana hingga pohon (Irsyam, 2016).

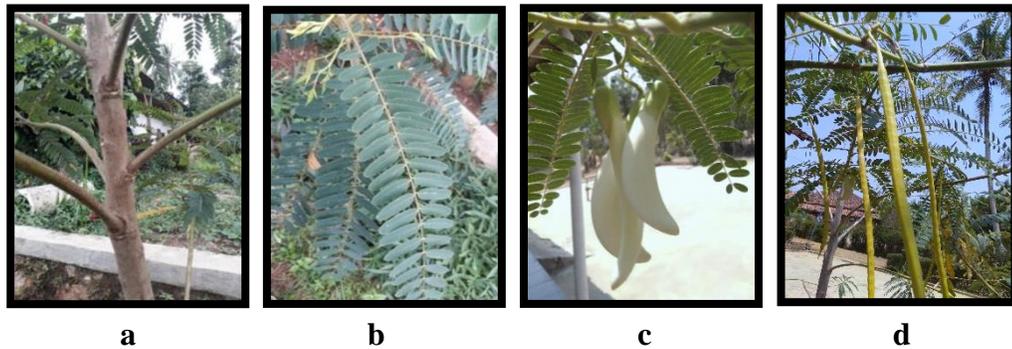
Pada penelitian sebelumnya telah dipaparkan bahwa famili Fabaceae memiliki kandungan metabolit primer seperti *lecithin*, kitin, dan inhibitor α -amilase serta memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, tannin, dan senyawa fenolik. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa hasil isolasi tumbuhan Fabaceae memiliki senyawa dengan aktivitas sebagai antimikroba dan antimalaria (Hawas *et al.*, 2012).

B. *Sesbania grandiflora*

Sesbania grandiflora merupakan jenis tumbuhan yang berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara yang sekarang telah tersebar di beberapa negara seperti Indonesia, Malaysia, India, dan Filipina. Masyarakat Indonesia menyebut *S. grandiflora* dengan nama turi (Bhoumik *et al.*, 2016).

Tumbuhan turi (*S. grandiflora*) dapat ditemukan di bawah 1.200 mpdl. Pohon turi memiliki tinggi kisaran 8-15 meter dengan diameter 25-30 cm. Batang turi (**Gambar 1a**) memiliki kulit batang berwarna kelabu hingga kecoklatan, memiliki alur yang tidak beraturan dengan bentuk membujur dan melintang, memiliki lapisan seperti gabus yang mudah terkelupas dan terdapat kandungan air pada bagian dalam serta sedikit berlendir (Agromedia, 2008).

Tumbuhan turi memiliki daun (**Gambar 1b**) majemuk yang letaknya tersebar, dengan daun penumpu yang panjangnya 0,5-1 cm dengan bentuk daun yang menyirip genap yakni 12-20 pasang anak daun yang bertangkai pendek dengan panjang 3-4 cm dan lebar 1 cm. Bunga turi (**Gambar 1c**) memiliki bentuk seperti bulan sabit, yang menggantung seperti lonceng dengan jumlah 2-4 pertangkainya. Apabila mekar, mahkota bunga berbentuk seperti kupu-kupu. Bunga turi terbagi menjadi dua warna, yakni warna merah jingga dan putih (Siddhuraju *et al.*, 2014). Buah turi berbentuk polong (**Gambar 1d**) yang menggantung vertikal, berbentuk agak mengginjal dan berwarna coklat gelap apabila sudah tua (Yuniarti, 2008).



Gambar 1 . Bagian-bagian dari tumbuhan turi (a) Batang, (b) Daun, (c) Bunga, dan (d) Biji

Dalam taksonomi, tumbuhan turi diklasifikasikan sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Sub-kingdom</i>	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub-kelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Leguminose
Genus	: <i>Sesbania</i>
Spesies	: <i>Sesbania grandiflora</i>
Nama binomial	: <i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers

(Sumber : Bahera *et al.*, 2012)

C. Kegunaan dan Efek Farmakologi dari *S. grandiflora*

Tumbuhan *S. grandiflora* telah dikenal sebagai tumbuhan yang memiliki manfaat dalam bidang pengobatan. Secara ilmiah, tumbuhan ini memiliki efek farmakologis pada masing-masing bagian jaringan tanamannya, seperti halnya memiliki potensi sebagai antioksidan, kaya akan vitamin A, vitamin C, *thiamine*, *riboflavin*, dan *nicotinic acid* yang dapat digunakan untuk melindungi manusia dari bahaya oksidasi

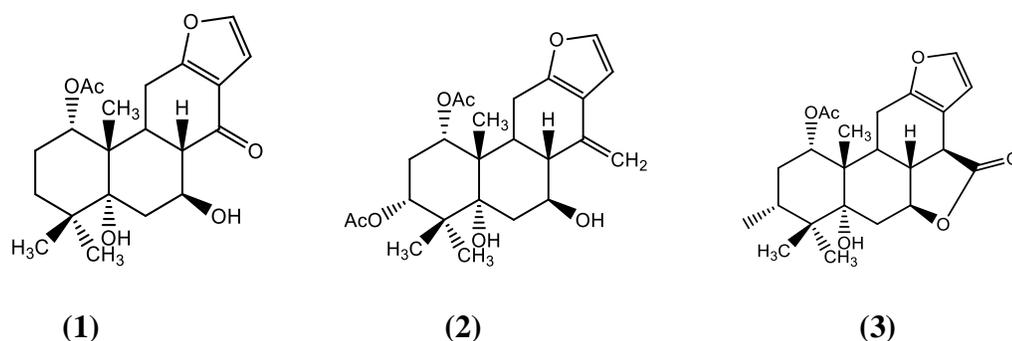
(Ramesh *et al.*, 2015). Adapun kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada bunga turi dapat digunakan sebagai antibakteri, sementara kandungan senyawa fenolik yang terdapat pada daun turi dapat digunakan sebagai antioksidan dan antihiperlikemia (Arunabha dan Satish, 2015).

Secara ilmiah, beberapa aktivitas biologis dari ekstrak tanaman turi telah dilaporkan bahwa, ekstrak metanol dan ekstrak etanol daun turi memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Lien *et al.*, 2020, Padmalochana dan Rajan, 2014). Sementara untuk ekstrak metanol dari akar turi menunjukkan aktivitas sebagai anti tuberkulosis (Noviany, *et al.*, 2012) dan ekstrak etanol dari bunga turi menunjukkan aktivitas antibakteri (Avalaskar, 2011). Powthong *et al.*, (2013) juga melakukan penelitian berupa isolasi fungi endofit yang berasosiasi dengan ranting dan daun turi yang menunjukkan aktivitas antibakteri, antijamur dan antioksidan.

D. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder pada Famili Fabaceae

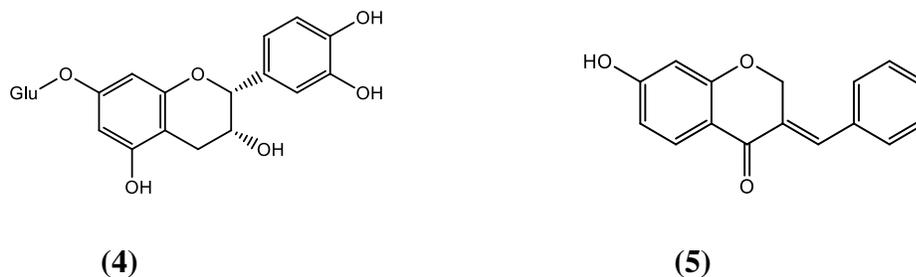
Tumbuhan famili Fabaceae mengandung senyawa metabolit sekunder yang cukup banyak dan beragam, dari susunan molekul sederhana hingga molekul yang paling rumit sekalipun. Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu organisme yang tidak terlibat secara langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan, atau reproduksi organisme. Senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada spesies tertentu. Tanpa adanya senyawa ini, organisme akan mengalami kerusakan atau menurunnya kemampuan bertahan hidup. Fungsi senyawa ini pada suatu organisme diantaranya adalah untuk bertahan dari predator, kompetitor, dan untuk mendukung proses reproduksi (Herbert, 1996). Senyawa dengan berat molekul 50-1500 Dalton ini adalah makromolekul yang tergolong ke dalam beberapa golongan utama yaitu terpenoid, saponin, steroid, fenil propanoid, poliketida, flavonoid, dan alkaloid (Saifudin, 2014).

Linn *et al.*, (2005) telah mengisolasi senyawa diterpen dari famili Fabaceae dengan genus *Caesalpinia*, yaitu norcaesalpinin E (1), caesalpinia C (2) caesalpinia D (3) yang ketiga senyawa tersebut telah diteliti memiliki kemampuan sebagai antimalaria. Struktur-struktur dari ketiga senyawa ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Senyawa diterpen yang telah diisolasi dari Fabaceae (Linn *et al.*, 2005)

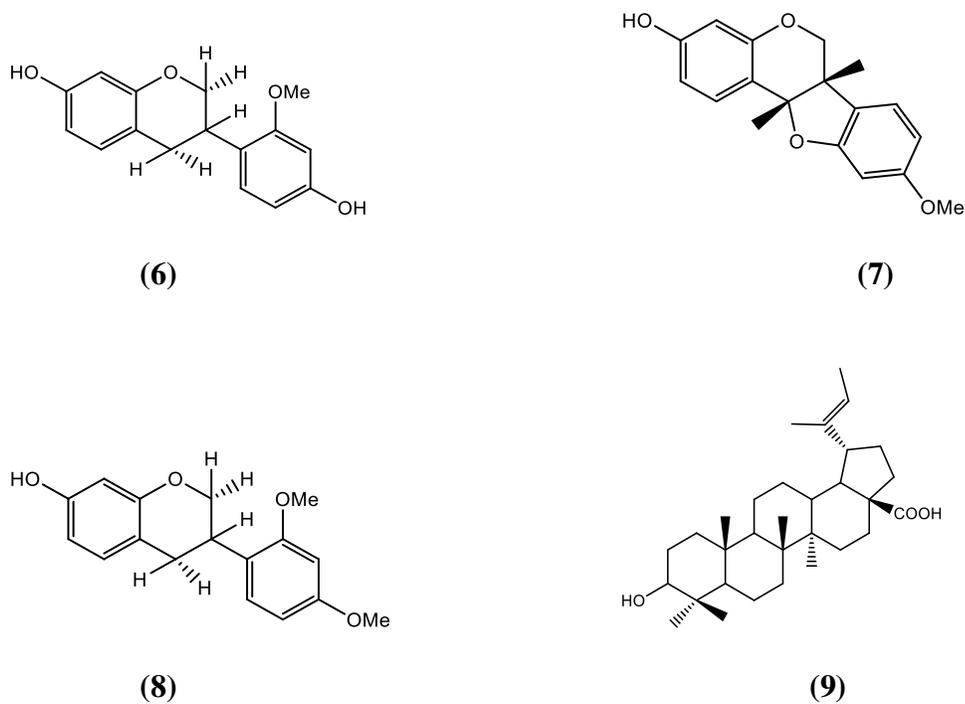
Selain golongan senyawa terpenoid, senyawa golongan fenolik juga ditemukan dan berhasil diisolasi dari famili Fabaceae. Senyawa yang banyak ditemukan yakni senyawa flavonoid. Misalnya dari *Guibourtia coleosperma*, senyawa flavonoid yang dihasilkan adalah flavonoid yang terikat dengan glikosida misalnya 7-O- β -D-xylopyranose epikatekin (4) yang berupa monomer (Bekker *et al.*, 2006). Pada genus *Caesalpinia*, flavonoid yang dihasilkan berupa homoisoflavonoid misalnya bondusellin (5) yang diisolasi dari *Caesalpinia Pulcherrima* (Zhao *et al.*, 2004)



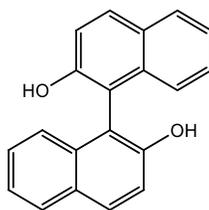
Gambar 3. Senyawa fenolik yang diisolasi dari tumbuhan Fabaceae (Bekker *et al.*, 2006, Zhao *et al.*, 2004).

E. Senyawa yang Telah Diisolasi dari *Sesbania grandiflora*

Padmalochana *and* Rajan (2014) telah berhasil melakukan uji pendahuluan pada ekstrak etanol daun turi yang menunjukkan adanya kandungan alkaloid, tannin, saponin, steroid, dan glikosida yang cukup tinggi. Baru-baru ini telah dilakukan skrining fitokimia bahwa pada bagian kulit batang turi mengandung senyawa golongan flavonoid, terpenoid, saponin, tannin, dan fenolik (Rasyidi dkk, 2015). Senyawa kimia golongan isoflavonoid seperti isovestitol (**6**), medicarpin (**7**), sativan (**8**), dan asam betulinat (**9**) ditemukan pada bagian akar (Hasan *et al.*, 2012) dan 1,1 binaphthalene-2,2-diol (**10**) juga berhasil diisolasi dari akar *S. grandiflora* (Noviany *et al.*, 2012).



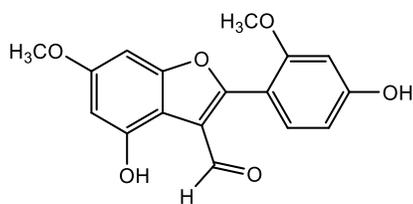
Gambar 4. Senyawa isoflavonoid yang diisolasi dari bagian akar (Hasan *et al.*, 2012).



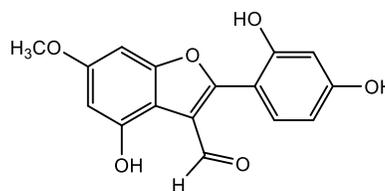
(10)

Gambar 5. Senyawa fenolik yang diisolasi dari bagian akar *S. grandiflora* (Noviany *et al.*, 2012).

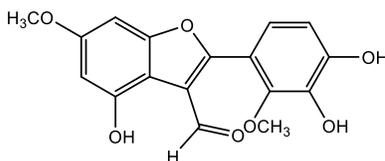
Selain itu telah berhasil diisolasi senyawa baru yang termasuk dalam senyawa jenis 2-aril-benzofuran yakni (6-metoksi-2-(2', 3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbalehida) atau sesbagrandidflorain A (**11**), dan (6-hidroksi-2-2'33'dihidroksi-5-metoksifenil-1-benzofuran-3-karbalehid) atau sesbagrandidflorain B (**12**) yang merupakan hasil dari isolasi fraksi etil asetat pada kulit batang tumbuhan turi putih (Noviany *et al.*, 2018), dan senyawa 2 aril-benzofuran lainnya yakni atau sesbagrandidflorain C (**13**) senyawa tersebut dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa, HepG2, dan MCF-7 (Noviany *et al.*, 2021). 2-(3,4-dihidroksi-2-metoksifenil)4-hidroksi-6-metoksibenzofuran-3-karbalehid.



(11)



(12)



(13)

Gambar 6. Isolasi senyawa 2-aril benzofuran dari kulit batang tumbuhan turi (Noviany *et al.*, 2018, 2021)

F. Fungi

Fungi merupakan mikroorganisme eukariotik dan sebagian besar adalah eukariotik multiseluler yang mempunyai ciri-ciri spesifik antara lain: mempunyai inti sel, membentuk spora, tidak berklorofil, saprofit, dapat berkembangbiak secara aseksual maupun seksual (Campbell, 1999). Fungi dapat diidentifikasi melalui pendekatan makro-mikroskopis dan molekuler untuk mengetahui jenis fungi (Sibero *et al.*, 2017).

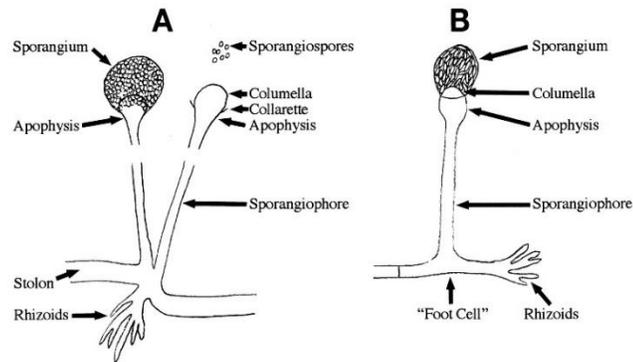
Menurut Winarsih (2011) sifat-sifat morfologi dari fungi antara lain adalah sebagai berikut:

1. Pembentukan Hifa dan Miselium

Hifa adalah benang-benang yang dibentuk oleh kapang atau jamur, sedangkan massa yang dibentuk oleh hifa disebut miselium. Secara mikroskopik hifa pada kapang atau jamur dapat dibedakan atas dua golongan yaitu hifa yang bersepta dan hifa yang tidak bersepta. Hifa bersepta dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu hifa vegetatif (mengambil zat-zat makanan), hifa udara (pengambilan oksigen) dan hifa produktif (membentuk alat-alat reproduksi).

1. Struktur dan Bagian yang Berproduksi

Fungi dapat tumbuh dari miselia, namun reproduksi utamanya disebabkan oleh adanya spora yang memiliki sistem reproduksi secara aseksual disamping sistem reproduksi secara seksual. Spora-spora yang memiliki sistem reproduksi secara aseksual dapat dihasilkan dari kapang yang berjumlah banyak serta tahan terhadap lingkungan kering.



Gambar 7. Morfologi Fungi

G. Fungi Endofit

Endofit merupakan mikroorganisme, baik itu fungi atau bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman. Presentasi keberadaan fungi endofit sendiri cukup tinggi yakni sekitar 70-80% yang dapat dijumpai pada bagian daun, batang, pucuk, dan akar. Telah dilakukan penelitian bahwa fungi endofit dapat memberikan manfaat positif pada tanaman inangnya (Hakim, 2015). Hampir 80% fungi endofit secara *in vitro* memproduksi senyawa metabolit aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antioksidan, herbisida dan juga pestisida alami (Kurnia dkk, 2014).

Semenjak ditemukannya fungi endofit yang dapat digunakan sebagai pengendali hayati, penelitian tentang fungi endofit mulai banyak diminati selain dianggap efektif, fungi endofit juga ramah lingkungan. Kelompok fungi endofit yang ditemukan pada tanaman inang dan berperan sebagai pengendali hayati seperti *Fusarium solani*, *Acremonium zeae*, *Verticillium sp.*, *Ampelomyces sp.*, dan *Neotyphodium lolii* (Kurnia dkk, 2014).

H. Bakteri

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme bersel tunggal dengan sel prokariotik yang tidak memiliki organel atau inti sel dan kurang kompleks jika dibandingkan dengan sel eukariotik. Sebaliknya, bakteri memiliki DNA dengan untai ganda dan berbentuk bulat yang terletak di dalam nukleoid, memiliki membran sel dan memiliki dinding sel yang sering disebut dengan peptidoglikan. Reproduksi bakteri terjadi secara aseksual, sehingga sel anak yang dihasilkan dari pembelahan biner memiliki DNA yang sama dengan sel induk (Masalha *et al.*, 2001).

Tabel 1. Ciri-ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm) Berlapis tunggal (mono)	Tipis (10-15 nm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%). Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri Ada asam teikoat	Kandungan lipid tinggi (11-12%). Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering Tidak ada asam teikoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Persyaratan nutrisi	Relatif rumit pada banyak spesies	Relatif sederhana
Resisten terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

(sumber : Pelczar *et al.*, 2008).

I. Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri dan biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder.

Mekanisme kerja senyawa antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu mengubah permeabilitas membran, merusak dinding sel, mengganggu sintesis protein, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis DNA, RNA dan protein. Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami pada bakteri patogen (Pelczar et al., 2008).

J. Kultivasi

Mikroba endofit telah diisolasi dari dalam jaringan tanaman kemudian dikembangkan dengan cara kultivasi untuk menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif fungi. Metode kultivasi terbagi menjadi dua, yakni kultivasi media padat dan kultivasi media cair. Kultivasi merupakan metode untuk menumbuhkan isolat dalam media buatan di luar habitat alaminya yang dilakukan secara aseptik. Kultivasi berfungsi untuk memperbanyak jumlah mikroba dengan cara membiarkan mikroba tersebut dalam media biakan secara *in vitro* dalam laboratorium. Lingkungan fisik mempengaruhi kultivasi mikroba sehingga perlu diperhatikan beberapa hal untuk menumbuhkan mikroba yaitu cahaya, temperatur, pH, konsentrasi oksigen, dan tekanan osmosis (Hogg, 2013).

K. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen atau senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut nonpolar. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi dalam proses ekstraksi yakni waktu ekstraksi, temperatur, dan jenis pelarut yang digunakan. Pemilihan jenis pelarut dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan seperti daya melarutkan, titik didih, mudah tidaknya terbakar, toksisitas, dan sifat korosif terhadap peralatan yang digunakan (Khopkar, 2008). Ekstraksi terdiri dari beberapa metode antara lain maserasi, sokletasi, refluks, ekstraksi cair-cair (partisi), dan destilasi uap.

L. Partisi

Ekstraksi cair-cair (partisi) merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengekstrak zat dalam suatu larutan dengan menggunakan pelarut tertentu, yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua atau lebih pelarut yang tidak saling bercampur satu sama lain. Zat yang dapat larut berada dalam fase pertama dan zat yang hanya larut sebagian berada pada fase kedua (senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar). Proses pemisahan suatu larutan dilakukan dengan menggunakan bantuan corong pisah yang bertujuan untuk memecahkan dinding sel sehingga membebaskan kandungan senyawa yang ada didalamnya serta memudahkan proses pemisahan fase. Zat yang telah tercampur kemudian didiamkan untuk melihat pemisahan yang terbentuk. Pemisahan akan terbentuk berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran suatu zat (Khopkar, 2008).

M. Skrining Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas merupakan ilmu yang mempelajari cara menganalisis kandungan aktivitas dalam suatu sampel. Pada uji skrining bioaktivitas menggunakan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) sebagai indikator yang utama untuk mengetahui potensi adanya mikroba, yang diidentifikasi sebagai konsentrasi (mg/L) pertumbuhan bakteri yang terlihat dicegah dalam kondisi yang telah ditentukan (Wiegand *et al.*, 2008). Metode yang digunakan dalam pengujian telah distandarisasi oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) for antibiotic testing* (2017)

N. Metode Pemisahan dan Pemurnian

1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen dalam sampel yang didasarkan pada distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan dapat berupa plat silika gel atau alumina dan fase gerak adalah pelarut yang dipilih berdasarkan bagian komponen dalam campuran. Pendeteksi suatu senyawa dapat dilakukan dengan metode visualisasi yang umum digunakan adalah dengan menggunakan pereaksi Dragendorff dan Serium sulfat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid (N tersier) dalam campuran yang ditandai dengan timbulnya noda *orange* pada hasil uji KLT. Pereaksi serium sulfat digunakan untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa organik dalam suatu sampel dengan cara penyemprotan reagen pereaksi pada plat KLT. Adanya senyawa pada suatu sampel ditandai dengan munculnya noda berwarna coklat

kehitaman. Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai Rf (*Retention Factor*) (Sastrohamidjo, 2002).

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh sampel}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

Ada dua faktor yang mempengaruhi nilai Rf pada kromatografi lapis tipis, yaitu fase diam dan pelarut yang diaplikasikan. Pada kromatografi lapis tipis jika fase diamnya adalah silika gel, senyawa yang dianalisis akan memiliki afinitas yang besar terhadap fase diam, dan bermigrasi lambat ke atas tidak seperti halnya pelarut (Sarker *et al.*, 2006).

2. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan komponen-komponen senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi yang didasarkan pada fasa diam dan fasa geraknya. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida sedangkan fasa geraknya dapat dimulai dari pelarut non polar kemudian secara bertahap nilai kepolarannya, baik dengan pelarut tunggal ataupun campuran dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai tingkat kepolaran yang dibutuhkan (Stahl, 1969).

Pada metode kromatografi kolom, pelarut akan mengalir ke bawah dan menyebabkan komponen campuran terdistribusi di antara adsorben bubuk dan pelarut yang digunakan. Pemisahan terjadi saat pelarut membawa komponen melalui ujung bawah kolom, beberapa komponen akan keluar lebih dahulu dan ada beberapa komponen yang keluar akhir. Laju elusi yang terjadi dipengaruhi juga oleh gaya gravitasi (Hajnos *et al.*, 2011)

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2020 – Juni 2021 di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung dan Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT- LTSIT) Universitas Lampung. Determinasi tumbuhan dilakukan Herbarium Bogoriense Bidang Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi *Laminar Air Flow* ESCO/AV4A1, *autoclave* Tomy SX-700, *rotary evaporator* Buchii/R210, lampu UV *Kohler/SN402006*, mikroskop *axio Zeiss A1* dan oven *Precision*, satu set perlengkapan kromatografi kolom, neraca analitik, dan *hot plate*. Alat-alat gelas yang digunakan diantaranya kaca penutup, kaca objek, batang pengaduk, cawan petri, jarum ose, *microplate reader 96 well*, labu erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, botol vial, corong pisah, pipet tetes, pinset, gunting, mikropipet, dan *cutter*.

2. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi akar, kulit batang, dan daun, dari tumbuhan turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers), kentang, agar-agar, *dextrose*, alkohol 70%, aquades, etil asetat (EtOAc), *n*-heksana, serium sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KK, metilen biru, bunsen, spidol, antibiotik *ciprofloxacin*, tisu, kapas, kasa, kertas saring, *aluminium foil*, *plastic wrap*, dan kertas perkamen. Bahan-bahan uji aktivitas antibakteri meliputi, isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari RS H. Abdul Moeloek, *cholaramphenicol*, *resazurin*, *Tryptic Soy Broth* (TSB).

C. Prosedur Penelitian

1. Biomaterial

Sampel tumbuhan turi putih diambil secara acak dari Desa Sukosari, Lampung Tengah dengan kode determinasi NV6/NRGD/2019. Pengambilan sampel tumbuhan turi putih dilakukan 3 pohon yang berbeda, pada bulan Januari 2020. Pengambilan sampel 1 pada titik koordinat (DD): -5.1965265, 105.0008591. pengambilan sampel 2 pada titik koordinat (DD): -5.1961512, 104.9995398. pengambilan sampel 3 pada titik koordinat (DD): -5.19586125, 102.0058109.

2. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Pada penelitian ini media *Potato Dextrose Agar* (PDA) digunakan untuk pertumbuhan fungi mengikuti prosedur dari Gams *et al.*, (1998) dengan beberapa modifikasi. Secara sederhana pembuatan media dilakukan dengan tahapan 250 gram kentang dicuci dan dikupas kulitnya kemudian dipotong-potong dan dimasukkan

dalam 500 mL air dan dipanaskan pada kondisi mendidih selama 20-30 menit. Hasil ekstrak kentang disaring kemudian ditambahkan 15 gram agar, 20 gram *dextrose*, aduk hingga rata. Aquades ditambahkan hingga 1000 mL, setelah itu campuran dipindahkan ke flask tutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Lalu ditambahkan 50 µg/mL antibiotik *ciprofloxacin* sebelum media dituang dalam *petri dish*.

3. Isolasi Fungi Endofit yang Berasosiasi dengan *S. grandiflora*

Akar, kulit batang, dan daun tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) diambil masing-masing sampel sebanyak ±500 gram setiap bagiannya. Sampel yang telah diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam *ziplock* dan disimpan dalam *cool box* untuk dibawa ke laboratorium dan dilakukan isolasi.

Sebelum melakukan isolasi fungi, terlebih dahulu masing-masing sampel tersebut dilakukan sterilisasi permukaan terlebih dahulu. Menurut Rante (2013) sterilisasi permukaan sampel dilakukan dengan cara, sampel yang telah diperoleh dicuci dengan air mengalir lalu dipotong dengan ukuran 1-3 cm, potongan sampel kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit dan dibilas dengan aquades. Semua potongan sampel akar, kulit batang, dan daun kemudian ditanam pada media PDA dengan bekas potongan menghadap ke media. Semua pekerjaan dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Media yang telah diinokulasi dan potongan sampel diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu ruang 29°C.

4. Pemurnian Fungi Endofit yang Berasosiasi dengan *S. grandiflora*

Fungi yang telah tumbuh di sekitar jaringan tanaman pada media PDA, kemudian secara bertahap dimurnikan satu persatu berdasarkan bentuk morfologi makroskopis,

warna dan bentuk koloninya. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur kembali pada media PDA baru hingga didapatkan isolat tunggal (Tirtana *et al.*, 2013).

5. Karakterisasi Fungi Endofit

Isolat-isolat fungi yang didapat kemudian dikarakterisasi secara makroskopik dan mikroskopik. Karakterisasi secara makroskopik dilakukan dengan pengamatan secara visual meliputi bentuk koloni dan warna koloni sampai didapat isolat murni atau tunggal. Karakterisasi secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan preparat isolat jamur endofit melalui mikroskop (Sudantha, 2009). Metode mikroskopik yang dilakukan yakni dengan menggunakan metode *slide culture* dengan meneteskan *methylene blue* yang telah diinokulasikan isolat fungi endofit kemudian diamati di bawah mikroskop (Tan dan Zou, 2001).

6. Kultivasi Fungi dari *S. grandiflora*

Isolat jamur yang telah murni (diperoleh dari tahap 4), kemudian dilakukan kultivasi dengan cara mengambil 1-2 ose isolat ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang telah berisi 50 mL media produksi yang terdiri dari 50 mL air kentang dan 1 gram *dextrose*. Selanjutnya media diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu ruang.

7. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Hasil kultivasi isolat fungi endofit selanjutnya diekstraksi dengan metode yang merujuk pada Kjer (2010) dengan sedikit modifikasi. Ekstraksi hasil kultivasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan kultur dan pelarut 1:2 v/v. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipisahkan antara miselium dengan media fermentasi. Media fermentasi selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary*

evaporator hingga didapat ekstrak kasar. Setelah didapatkan ekstrak kental dari fraksi tersebut kemudian dilakukan uji KLT. Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji skrining bioaktivitas untuk mengetahui keaktifan dari sampel tersebut (Zheng *et al.*, 2005).

8. Skrining Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kasar yang telah diperoleh dari fraksi etil asetat kemudian dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen yang terdiri atas pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan yang sesuai setelah sebelumnya sampel dilarutkan dalam aseton dan ditotolkan pada plat KLT.

Plat KLT yang telah dielusi, bercak atau noda dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya kromatogram disemprot dengan menggunakan serum sulfat yang bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa organik yang ditandai dengan munculnya noda atau bercak berwarna coklat kehitaman. Kemudian diamati dan dihitung nilai *Retention factor* (Rf) dari masing-masing komponen untuk mengetahui tingkat kepolaran masing-masing komponen.

9. Uji Skrining Bioaktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada isolat fungi dilakukan dengan metode turbidimetri dengan menggunakan *microplate reader 96 well*. Metode turbiditas digunakan untuk melihat tingkat turbiditas (kekeruhan) pada hasil uji yang telah dilakukan. Berridge and Barret (1952) menjelaskan bahwa semakin sedikit bakteri yang hidup maka nilai turbiditas yang diberikan juga semakin kecil. Tahapan pengujian meliputi

a. Persiapan Media Uji

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dibiakkan pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) yakni sebanyak 2 gram dilarutkan ke dalam 100 mL aquades kemudian disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm. Selanjutnya, media dituangkan dalam *petri dish* dan dilakukan penyinaran sinar UV dalam laminar selama 10-15 menit. Kemudian bakteri *S.aureus* digoreskan pada media TSB dan diinkubasi selama 18 jam dengan suhu 37°C (Balasubramanian *et al.*, 2017). Kemudian disiapkan inokulum menggunakan media *Tryptic Soy Broth* (TSB) dan diukur kekeruhannya menggunakan *hospitex*, lalu suspensi bakteri dilakukan pengenceran 1:10 dalam media *Tryptic Soy Broth* (TSB) (Elsikh *et al.*, 2016).

b. Pengujian Antibakteri

Ekstrak sampel EtOAc sebanyak 2000 ppm (2mg/mL) dilarutkan dalam 12,5% MeOH p.a. masing-masing plate pada *microplate reader 96 well*, berisi 145 µL media TSB yang dilengkapi dengan MeOH p.a 12,5%, 50 µL antibiotik, 25 µL inokulum bakteri dan 50 µL ekstrak fungi dari turi. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati secara visual berdasarkan perubahan warna resazurin serta diukur nilai OD₆₀₀ nm menggunakan *hospitex*.

10. Kromatografi Kolom (KK)

Frakasi yang telah diketahui mengandung senyawa yang lebih dominan dan memiliki sifat bioaktif dari hasil uji bioaktivitas, selanjutnya dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom (KK). Pemisahan menggunakan kromatografi kolom bertujuan untuk memisahkan komponen suatu senyawa bahan alam khususnya metabolit sekunder, kolom kromatografi juga digunakan untuk menghasilkan

senyawa bioaktif fungi terhadap bakteri secara murni (Poole, 2009). Fraksinasi dilakukan menggunakan teknik kromatografi kolom yang dibuat dengan serbuk silika dan elusi dilakukan dengan gradien pelarut. Keberadaan komponen flavonoid dari fraksi hasil pemisahan dimonitoring kembali dengan metode KLT menggunakan pereaksi serium sulfat.

Tahapan fraksinasi kromatografi kolom, adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian hingga berbentuk bubuk (*slurry*). Bubuk (*slurry*) dari silika gel dimasukkan ke dalam kolom terlebih dahulu serta diatur kerapatan dan kerataanya. Selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan pada silika gel ke dalam kolom yang telah berisi adsorben. Pada saat sampel dimasukkan, kolom diusahakan tidak kering atau kehabisan pelarut sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al.*, 1991).

11. Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT. Uji kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Pengamatan noda dilakukan di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian untuk menampakkan bercak atau noda dari komponen senyawa tersebut, plat disemprot dengan larutan pereaksi serium sulfat (Stahl, 1985).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi lima belas isolat fungi dari tumbuhan turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers).
2. Hasil uji skrining bioaktivitas antibakteri lima belas isolat fungi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat tiga isolat yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan tingkat penghambatan yang berbeda-beda, yaitu EAFT3-1 (0,168 nm), EBFT3-1 (0,143) nm , dan EBFT3-3 (0,150 nm).
3. Isolat fungi EAFT3-1 memiliki potensi antibakteri yang baik dengan nilai turbiditas 0,168 nm.
4. Subfraksi Ea hasil dari pemurnian dari ekstrak EAFT3-1 tidak bersifat sebagai antibakteri.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka perlu dilakukan kajian lebih lanjut sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian terhadap fraksi lain pada isolat fungi EAFT3-1 untuk mendapatkan informasi adanya potensi senyawa sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukannya analisis filogenetik terhadap isolat fungi EAFT3-1.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ako-Nai, A. K., Adeyemi, F. M., Aboderin, O.A., Kassim, O.O. 2005. Antibiotic resistance profile of *Staphylococcus* from clinical sources recovered from infants. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (8), pp. 816-822.
- Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1829-1845.
- Arunabha, M. & Satish, N. (2015). Study the Immunomodulatory Effects of Combined Extracts of *Sesbania grandiflora* Flowers and *Cocculus hirsutus* Leaves on The Circulating Antibody Response. *Am. Journa Phytomedical Clinical Therapeutics*. 3 (3): 199-208.
- Avalaskar, A. N., Itankar, P. R., Joshi, V. S., Agrawal, M., and Vyas, J. 2011. Phytochemical; and TLC Studies of Ethanolic Extract of *Sesbania grandiflora* (Fabaceae). *International Journal Pharmaceutical Technology Research*. 3 (3): 1346-1349.
- Bahera, M., R. Karki, and C. Shekar. 2012. Preliminary Phytochemical Analysis of Leaf and Bark Methanolic Extract of *Sesbania grandiflora*. *The Journal of Phytopharmacology*. 1(2): 10-20.
- Balasubramanian, S., Othman, E.M., Kampik, D., Stopper, H., Hentschel, U., Ziebuhr, W. 2017. Marine Sponge-Derived *Streptomyces* sp. SBT343 Extract

- Inhibits *Staphylococcal* Biofilm Formation. *Journal. Front. Microbiol.* 8: 236.
- Bekker, M., Bekker, R., and Brandt, V. E. 2006. Two Flavonoid Glycosides and A Miscellaneous Flavan From The Bark of *Guibourtia. coleosperma*. *Phytochemistry*.67: 818-823.
- Berridge, N. J. and Barrett, J. 1952. A Rapid Method for The Turbidimetric Assay of Antibiotics. *Journal. Gen. Microbial.* 6: 14-20.
- Bhore, S. J. dan Sathisha, G. 200. Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal. Agricultural. Science.* 6 (4): 345-352.
- Bhounik, D., Berhe. A. H. and Mallik, A. 2016. Evaluation of gastric anti-ulcer potency of ethanolic extract of *Sesbania grandiflora* Linn leaves in experimental animals. *Am. Journal Phytomedicine Clin. Ther.* 4(6): 174-182.
- Bode, H.B., Bethe, B.H. and Zeeck, A. 2002. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *Chem. Bio. Chem.* 3:619-627.
- Campbell N. A., Reece., Jane. B. M, and Lawrence, G. 1999. *Biologi 5th ad. Jilid 2.* Jakarta: Erlangga.
- Center for Disease Control and Prevention. 2013. *Antibiotic resistance threats in the United States.* Department of Health and Human Services. Atlanta: U.S.
- Dirga., Sudewi, K, M., Akhmad, A,D., Setyawan, I, A., dan Pratama,A. 2021. Evaluation of Antibiotic Use for Inpatients in Internal Medicine Ward Dr. H. Abdul Moeloek Lampung Province. *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* 11 (1) : 65-75

- Doddola, Sujatha., H. Pasupulati., B. Koganti., Koganti V., S. R. G. Prasad. 2008. Evaluation of *Sesbania grandiflora* for Antiurolithiatic and Antioxidant Properties. *Journal of Natural Medicines*. 62: 300-307.
- Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., and Banat, I. M. 2016. Resazurin-based 96-well Plate Microdilution Method for The Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Biosurfactants. *Biotechnology Letters*. 38 (6):1015-1019.
- Gams, W., Hoekstra, E. S., and Aptroot. A. 1998. *C. B Course on Mycology*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, AG Baarn. The Netherlands.
- Goul, D dan Brooker, C. 2003. *Mikrobiologi Terapan Untuk Perawat*. EC. Jakarta.
- Goun, E., Cunningham, G., Chu, D., Nguyen, c., and Miles, D. 2003. Antibacterial and Antifungal Activity of Indonesian Ethnomedical Plant. *Fitoterapia*. 76: 592-596
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 266 hlm.
- Hajnos, M., Waksmundzka, and Sherma, J. 2011. *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*. CRC Press Taylor and Francis Group. Boca Raton. 13-15.
- Hakim, S.S. 2015. *Fungi Endofit: Potensi dan Pemanfaatannya Dalam Budidaya Tanaman Kehutanan*. (1) 1.
- Hasan, N., Osman, H., Mohamad, S., and Chang, W.K. 2012. The Chemical Components of *Sesbania grandiflora* Root and Their Antituberculosis Activity. *Pharmaceuticals*. 5. 882-889.
- Hawas, U. W., S. A. Eltomy., S. Abauzid., G. A. El-Hosany and R. M. Nassif. 2012. Lipid Content and antimicrobial Activity of Some Egyptian Leguminosae Plants. *Journal of Medical Plants Research*. 6 (44): 5606-5608.

- Herbert, R. B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang. 103-123 hlm.
- Hogg, S. 2013. *Essential Microbiology, Second Edition*. Blackwell. USA.
- Indriyanto. 2012. *Ekologi Hutan*. Sinar Grafika Offset. Jakarta.
- Inglis, T. J. J. 2003. *Microbiology and Infection*. 2nd Ed. Toronto. Churchill Livingstone.
- Irsyam, Dwipa, A.S, dan Priyanti. 2016. *Suku Fabaceae Di Kampus Universitas Islam Negeri (Uin) Syarif Hidayatullah, Jakarta, Bagian 1: Tumbuhan Polong Berperawakan Pohon*. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. Peraturan menteri kesehatan nomor 2406. 2011. *Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta:
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kjer, J, Debbab .A., Aly A. H, Proksch P. 2010. Methods for Isolat of Marine-Derived Endophytic Fungi and Their Bioactive Secondary Products. *Nature Protocols*. 5(3): 479-490.
- Kurnia, A.T., Pinem, M.I., & Oemry, S. 2014. Penggunaan Jamur Endofit untuk Mengendalikan *Fusarium oxysporum f.sp. capsici* dan *Alternaria solani* secara *in vitro*. *Journal Agroteknologi tropis*. Vol. 2.No.4.
- Lewis, E. G., Schrire, B., and Mackinder, B. 2005. *Legume of The World*. Kew Publishing. London.
- Lien, Huurun, Lalu, Z., dan Prapti, S. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun TUi (*Sesbania grandiflora* (L.) Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella Pneumoniae*. *Jurnal Biologi Tropis*. 20 (2). 219-226.

- Linn, T. Z., Awale, S., Tezuka, Y., Banskota, A.H., Kalauni, S. K., Attamimi, F., Attamimi, J., Ueda., Asih, P. B. S., Syafruddin, D., Tanaka, K., and Kadota, S. 2005. Cassane- and Norcassane-Type Diterpenes From *Caesalpinia crista* of Indonesia and Their Antimalarial Activity Against The Growth of *Plasmodium falciparum*. *Journal of Natural Products*. 68: 706-710.
- Masalha, M., Boroyol, I., Schreiber, R., Aharonowitz, Y., and Cohen, G. 2001. Analysis of Transcription of the *Staphylococcus aureus* aerobic class Ib and anaerobic class III ribonucleotide reductase genes in response to oxygen. *Journal of Bacteriology*. 24: 7260–7272.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. .2017. Clinical and Laboratory Standards Institute “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing’”; twenty-second informational supplement-27th ed. M100-S26. *Standards*. Vol 37 No. 1.
- Noviany, N., Arash, S., Evan. L. C., Mostafa, E. A., Sutopo, H., Neny, P., Gitali, I., Arup, I., and Taifo, M. 2021. Structural Revision of Sesbigrandiflorins A and B Synthesis and Biological Evaluation of 6-methoxy-2-arylbenzofuran derivatives. *Journal of Natural Medicines*. 75: 66-75.
- Noviany, N., Nurhidayat, A., Hadi, S., Suhartati, T., Azis, M., Purwitasari, N. and Subasman, I. 2018. Sesbigrandiflorin A and B : Isolation of Two New 2 arylbenzofurans from the Stem Bark of *Sesbania grandiflora*. *Natural Product. Res.* 32. 2558-2564
- Noviany, N., Samadi, A., Yuliyani, N., Hadi, S., Azis, M., Purwitasari, N., Mohamad, S., Ismail, N. N., Gable. K. P., and Mahmud, T. 2020. Structural Characterization and Biological Activity of 2-arylbenzofuran From an Indonesia Plant, *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochemistry Letters*. 35: 211-215.
- Noviany., Osman, H., Chong, W.K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012. Isolation and Characterisation of 1,1'-binaphthalene-2,2'-diol, A New Biaryl Natural Product from *Sesbania grandiflora* Root. *Journal of Basic and Applied Sciences*. 8. 253-256.

- O'Brien J., Wilson, Orton, T., and Pognan, F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *J. of Biochemistry*. 267: 5421-5426.
- Padmalochana, K and Dhana Rajan, M. S. 2014. Antimicrobial Activity of Aqueous, Ethanol and Acetone Extracts of *Sesbania grandiflora* Leaves and Its Phytochemical Characterization. *International Journal Pharma Sciences and Research*. 5(12): 957-962.
- Pelczar, Michael, J., dan Chan, E.C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Poole, C. 2009. *Handbook of Method and Instrumentation in Separation Science*. Academic Press: 72.
- Powthong, P., Jantrapanukorn, B., Thongmee, A., and Suntornthiticharoen, P. 2013. Screening of Antimicrobial Activities of The Endophytic Fungi Isolated from *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15: 513-522.
- Purba, A, K, R., Mariana N., Gestina A., Wulandari R, R., Wijaya S, H., and Postma M. PIN98. 2019. National burden of sepsis in Indonesia: an analysis based on focal infection. *Value in Health* 1. 22(3): 55
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta. Buku Kedokteran EGC. 295hlm.
- Ramesh, T and Begum, V. H. 2007. Protective Effect of *Sesbania grandiflora* on Lung Antioxidant Defense System in Cigarette Smoke Exposed Rats. *International Journal Biology and Chemistry* 1: 141-148.
- Ramesh, T., Sureka, C., Bhuvana, S., Begum, V. H. 2015. Brain Oxidative Damage Restored by *Sesbania grandiflora* in Cigarette Smoke-Exposed rats. *Metabolisme Brain*. Dis. 450: 1-10.

- Rante, H., Taebe, B., dan Intan, S. (2013). Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annum* L var. *Chinensis*) dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 17 (2): 39 – 46.
- Rasyidi, R. D. G., Noviany,. A. Nurhidayat,. dan A. Setianingrum. 2015. *Skrining Fitokimia Dan Uji KLT Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Obat Tradisional Di Lampung*. Prosiding Nasional Sains & Teknologi VI Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung. Bandar Lampung. 685-695 hlm.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder : Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Penerbit Deepublish. Yogyakarta. 71-7 hlm.
- Sangeetha, A., G.S. Prasath,. and S. Subramanian. 2014. Antihyperglycemic and Antioxidant Potential of *Sesbania grandiflora* Leaves Studied In STZ Induced Experimental Diabetic Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 5(6): 2266-2275.
- Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I. 2006. *Method In biotechnology Natural Product Isolation Second Edition*. Humana Press. New Jersey.
- Sastrohamidjo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Setiawan, A. 2006. *Bioaktivitas Jaspamide Terhadap sel KB dan LI210*. Prosiding. Lembaga Penelitian . Universitas Lampung 484 – 489 hlm.
- Sertie, J. A., Wieze, G., Woisky, R. G., and Carvalho, J. C. 2001. Antiulcer Activity of the Ethanol Extract of Leaves of *Sesbania grandiflora* (L). *Journal Pharm Science* 37: 107-111.
- Sherma Joseph and Bernard Friend. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography Third Edition, Revised and Expanded*. Maecel Dekker. Inc. New York.
- Sibero, M. T., Aninditia, S., Olvi, C., Handung, C., Ocky, K. R., Agus, S., Agus, T. 2017. Isolation, Identification And Screening Antibacterial Activity from Marine Sponge-Associated Fungi Against MultidrugResistant (MDR)

Escherichia coli. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science* 55: 12 – 28.

Siddhuraju, P., A. Abirami, G. Nagarani, M. Sangeethapriya. 2014. Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Aqueous Acetone and Ethanol Extract of Edible Parts of *Moringa oleifera* and *Sesbania grandiflora*. *International Journal of Biological Macromolecules*. Food Biotechnol. Eng 8(9): 1090-1098.

Simarmata,R., Lekatompessy, S., Sukiman, H. 2007. *Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (Gymura procumbens) dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba*. Berk Penel Hayati 13: 85-90.

Stahl, E. 1969. *Thin-Layer Chromatography*. Springer-Verlag. Berlin.

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Alam secara Kromatografi dan Mikroskopi*. ITB. Bandung.

Sudantha, I. M. 2009. Uji efektivitas beberapa isolat jamur endofit antagonistik dalam meningkatkan ketahanan terinduksi beberapa klon vanili terhadap penyakit busuk batang. *Agroteksos* 19. (2): 1-2.

Sutejo, A.M., Priyatmojo, A., and Wibowo, Arif. 2008. Morphological identification of several fusarium species. 2008. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. Vol.14. (1). 7-13

Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbath, S., Mendelson, M., Monnet, D.L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Oullette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavalieri, M., Cox, E.M., Houchen, C.R., Grayson, M.L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U and Magrini, N. 2018. Discovery, Research, and Development of New Antibiotics: the WHO Priority list of antibiotic resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 3: 318-327.

Takahashi, K and Yamanaka, S. 2013. Induced pluripotent stem cells in medicine and biology. *Development* 140 : 2457 - 2461.

- Tan, R. X and W. X Zou., 2001. Endophytes: a Rich Source of Functional Metabolites. *Journal Natural Product Reports* 18 (7): 448-459.
- Tirtana, Z.Y.G., Liliek S., dan Abdul C. 2013. Eksplorasi Jamur Endofit pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L) serta Potensi Antagonismenya terhadap *Phytophthora infestans* (Mont.) de Barry Penyebab Penyakit Hawar Daun Secara *In Vitro*. *Jurnal HPT*. Vol. 1. No. 3.
- Wiegand, I., Hilpert, K., and Hancock, R.E.W. 2008. Agar and Broth Dilution Methods to Determine the *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) of Antimicrobial Substances. *Journal Natural Products* 3:163-175.
- Winarsih, S. 2011. *Reproduksi dan Pertumbuhan Mikroorganisme*. Palangkaraya: Program Studi Pendidikan Biologi Pascasarjana: Universitas Palangkaraya. 36-41 hlm.
- Yuniarti, T. 2008. *Tanaman Obat Tradisional*. Media Pressindo. Yogyakarta.
- Zhao, P., Y. Iwamoto, I. Kouno, Y. Egami, H. Yamamoto. 2004 Stimulating the Production of Homoisoflavonoids in Cell Suspension Cultures of *Caesalpinia pulcherrima*. Using Cork Tissue. *Phytochemistry* 65: 2455-2461.
- Zheng., L, H, Chen, X, Han, Wei Lin and Yan, X. 2005. Antimicrobial Screening and Active Compound Isolation from Marine Bacterium NJ6-3-1 associated With the Sponge *Hymeniacidon perleve*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 21: 201–206.