

Isolasi dan Analisis Antimikroba dari Kapang Endofit Tanaman Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* Linn)

Isolation and Antimicrobial Analysis from Endophyt Mold of Eucalyptus (Melaleuca leucadendron Linn)

Mellova Amir^{1*}, Silviana Dewi¹, Inherni Marti Abna¹

³Program Studi Farmasi, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

Email: mellova.amir@esaunggul.ac.id

Kata kunci: Kapang, Endofit, Kayu putih, antimikroba.

Keyword: *Mold, endophyte, eucalyptus, antimicrobial*

Korespondensi:

Mellova Amir

Program Studi Farmasi

Universitas Esa Unggul,

Jakarta, Indonesia

Email:

mellova.amir@esaunggul.ac.id

ABSTRAK

Kapang endofit pada jaringan tanaman kayu putih dapat menghasilkan metabolit bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat seperti pada tanaman inangnya. Tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron* Linn.) memiliki kandungan kimia yaitu lignin, melaleucin, serta minyak atsiri terdiri dari seneol 50-65%, alpha-terpineol, valeraldehida, dan benzaldehida yang memiliki potensi sebagai antimikroba. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan isolat kapang endofit dari daun dan batang tanaman kayu putih, serta mengetahui aktivitas sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Hasil penelitian kapang endofit pada daun dan batang tanaman kayu putih berhasil diisolasi sebanyak 4 isolat terdiri dari 3 isolat kapang endofit dari daun yaitu D3, D5KP, D5KH dan 1 isolat kapang endofit dari batang. Isolat yang sudah didapatkan kemudian difermentasi pada media *Potato Dextrose Broth* selama 5 hari kemudian diuji aktivitas antimikrobanya. Hasil uji aktivitas antimikroba dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat yang diperoleh yaitu isolat D3 terhadap *Escherichia coli* dengan diameter terbesar 4,5 mm, isolat D5KH terhadap *Escherichia coli* dengan diameter terbesar 4,6 mm, isolat D5KP terhadap *Escherichia coli* dengan diameter 4,8 mm dan isolat D5KP terhadap *Candida albicans* dengan diameter 3,8 mm.

ABSTRACT

Endophytic molds are microbes that live in plant tissues and do not harm the host. Endophytic molds can produce bioactive compounds that can be used as antimicrobial, antioxidant, antidiabetic and anticancer compounds. This research was conducted with the aim of obtaining endophytic mold isolates from eucalyptus leaves and stems and to determine their antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The results of the study of endophytic molds on the leaves and stems of eucalyptus plants were isolated as many as 4 isolates consisting of 3 isolates of endophytic molds from leaves, namely D3, D5KP, D5KH and 1 isolate of endophytic molds from stems. The obtained isolates were then fermented on Potato Dextrose Broth media for 5 days and then tested for antimicrobial activity. The results of the antimicrobial activity test can be seen from the formation of the inhibition zone obtained, namely isolate D3 against *Escherichia coli* with the largest diameter of 4.5 mm, isolate D5KH against *Escherichia coli* with the largest diameter of 4.6 mm, isolate D5KP against *Escherichia coli* with a diameter of 4.8 mm and D5KP isolates against *Candida albicans* with a diameter of 3.8 mm.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen seperti bakteri, jamur, virus dan parasit. Pada umumnya pengobatan infeksi menggunakan antibiotik, tetapi karena terdapat banyak kesalahan dalam penggunaan antibiotik menyebabkan tingginya kasus resistensi. Pemanfaatan bahan alam sebagai sumber obat antiinfeksi perlu dikembangkan. Salah satu pengobatan penyakit infeksi dengan menggunakan bahan alam yaitu menggunakan metabolit sekunder yang dihasilkan dari jaringan tumbuhan yang berkhasiat obat.

Pada jaringan tumbuhan terdapat mikroorganisme hidup yang dapat bermanfaat bagi kesehatan dan mampu hidup tanpa membahayakan inangnya disebut mikroba endofit. Mikroba endofit mampu hidup dengan membentuk koloni di dalam jaringan tanaman inang yang hidup berinteraksi dan saling menguntungkan tanpa merugikan satu sama lain (Patra, 2018)

Kapang endofit merupakan golongan mikroba endofit yang paling banyak ditemukan dan terdapat dalam jumlah yang besar di alam. Besarnya jumlah tersebut diperkirakan karena satu spesies tumbuhan dapat ditumbuhi oleh satu atau beberapa jenis kapang endofit (Jamilatun & Shufiyani, 2019). Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif sama seperti senyawa tanaman inangnya karena ada kemungkinan terjadinya transfer genetik antara tanaman

inang dengan mikroba endofit sehingga senyawa bioaktif pada tanaman inang tersebut dapat dihasilkan juga oleh mikroba endofit. Isolasi mikroba endofit dari tanaman obat bisa menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Mikroba endofit merupakan organisme yang mudah ditemukan dan menghasilkan senyawa bioaktif yang cepat (Patra dkk., 2018). Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang mudah tumbuh, dan menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi (Prihatiningtias dan Wahyuningsih, 2006). Mikroba endofit dari tanaman obat dapat menjadi bahan baku pembuatan obat yang tidak menyebabkan terjadinya eksploitasi tanaman obat secara berlebihan (Rahmi dkk., 2013).

Tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron* Linn.) termasuk keluarga myrtaceae yang tersebar luas di daerah tropis.. Spesies ini bisa ditemukan di Indonesia salah satunya yaitu *Melaleuca leucadendron* Linn, *Melaleuca cajuputi*, dan *Melaleuca viridi* flora Corn. Spesies yang paling banyak tumbuh di Indonesia yaitu *Melaleuca leucadendron* Linn atau yang lebih dikenal tanaman kayu putih (Pujiarti dkk., 2011).

Tanaman kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) dapat menghasilkan minyak atsiri dan tanaman ini memiliki beragam bioaktivitas seperti antibakteri, antijamur, antioksidan, insektisida (Zhang dkk., 2019). Daun kayu putih bagi masyarakat Indonesia biasanya digunakan untuk obat

tradisional karena daun kayu putih memiliki senyawa antibakteri yang dapat digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti gatal-gatal, diare, sakit tenggorokan, radang usus, gangguan pernafasan serta sakit kepala (Hakim dkk., 2019).

Pada penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak ethanol daun kayu putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Hakim dkk., 2019). Pada penelitian lainnya telah dilakukan uji aktivitas antimikroba ekstrak daun kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) sebagai antibakteri secara in vitro yang memiliki aktivitas antibakteri antara lain terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, dan *Aspergillus niger* (Tria dkk., 2020). Namun dari semua penelitian tersebut belum pernah dilakukan uji aktivitas antimikroba dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba endofit yang ada pada tanaman *M. leucadendron* Linn.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan uji aktivitas antimikroba kapang endofit pada daun dan batang tanaman kayu putih terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan fungi *Candida albicans* dengan menggunakan metode difusi agar (*Kirby-Bauer*) atau biasa disebut metode kertas cakram.

METODE PENELITIAN

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Kebon Jeruk – Jakarta Barat. Penelitian telah dilakukan dari Maret 2021 – September 2021

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf (Tommy), cawan petri, tabung reaksi besar, oven, inkubator (Santn), vortex (Dragonlab), *laminar air flow* (Labtech), *hot plate*, timbangan analitik, *water bath*, kaca cover, bunsen, kaca objek, kaca penutup, mikroskop, jarum ose, kertas cakram, mikro pipet dan tip, *magnetic stirer*, erlemeyer, *beaker glass*, gelas ukur, batang pengaduk, tabung eppendorf, kasa, tali, aluminium foil, plastik wrap, parafilm, kertas saring, pinset, spatula, sentrifugasi, *orbital shaker* suhu kamar, jangka sorong dan alat-alat gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium mikrobiologi.

Bahan

Bahan yang digunakan sebagai berikut:

Sampel uji berupa daun tua berjumlah 5 helai dan 1 batang (dahan) tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron* Linn.) diperoleh dari BALITRO (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat) Bogor dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI, Cibinong, Bogor. Bahan lain adalah etanol 75%, larutan hipoklorit 5,3%, aquadest, air

bersih mengalir, metilenblue, NaCl fisiologis 0,9%. Media Potato Dextrose Agar (PDA), Nutrient Agar (NA), Potato Dekstrose Broth (PDB). Baku pembanding antibiotik kloramfenikol 30 µg, antijamur ketokonazol 10 µg. Mikroba uji bakteri: Gram positif *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan Fungi *Candida albicans*

Pembuatan media

Potato Dextrose Agar (PDA) sebanyak 39 gr dilarutkan dengan aquadest 1000 ml di dalam erlenmeyer. Larutan PDA dididihkan dan dihomogenkan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Media PDA selanjutnya disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 15 lbs. Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri sampai setengah cawan petri dan dibiarkan membeku (Zakiyah dkk., 2016).

Nutrien Agar (NA) sebanyak 2,8 gr NA dan dilarutkan dengan 1000 ml aquadest dalam Erlenmeyer. Larutan NA dididihkan dan dihomogenkan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Media NA disterilkan di dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 15 lbs. Media NA dituangkan ke dalam cawan petri sampai setengah cawan petri dan dibiarkan membeku (Rianto dkk., 2018).

Potato Dekstrosa Broth (PDB) sebanyak 26,4 gr dilarutkan ke dalam 1000 ml aquadest dalam erlenmeyer. Larutan PDB dididihkan dan dihomogenkan menggunakan

hot plate dan *magnetic stirrer*. Media PDB disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 15 lbs (Zakiyah dkk., 2016).

Isolasi kapang endofit

Daun dan batang kayu putih (*Melaleuca Leucadendron* Linn) dicuci menggunakan aquadest untuk menghilangkan kotoran pada tanaman. Kemudian dipotong menjadi beberapa bagian dan disterilkan dengan direndam ke dalam etanol 75% selama 2 menit, kemudian direndam pada larutan hipoklorit 5,3 % selama 5 menit, etanol 75% selama 30 detik (Sunkar dkk., 2017; Hafsari dan Asterina, 2013). Bahan yang sudah steril dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah ditanami PDA (*Potato Dextrose Agar*) secara aseptis. Bilasan aquadest bekas dimasukkan ke dalam media PDA untuk dijadikan sebagai kontrol negatif secara aseptis kemudian diinkubasi pada suhu kamar 25°C (Rianto dkk., 2018).

Pemurnian kapang endofit

Permurnian kapang endofit bertujuan untuk memisahkan koloni endofit yang secara morfologi berbeda-beda untuk menjadi isolat murni. Kapang endofit yang tumbuh diambil satu persatu dengan morfologi yang berbeda. Kapang diinokulasikan ke dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan secara morfologi dilakukan setelah diinkubasi selama 5 sampai 7 hari. Jika masih terlihat ada pertumbuhan koloni yang berbeda secara

makroskopis harus dipindahkan kembali ke media PDA cawan petri lainnya sampai didapatkan isolat murni. Kapang yang sudah murni selanjutnya diinokulasikan ke dalam biakan agar miring secara duplo pada agar miring (Fajrina dkk., 2020).

Karakteristik kapang endofit

Karakteristik kapang endofit secara makroskopik diidentifikasi dengan mengamati morfologi koloni meliputi warna koloni, warna balik koloni, permukaan koloni (granular seperti tepung, menggunung, licin), tekstur, zonasi, daerah tumbuhnya koloni, garis-garis radial, dan tetes eksudat (Ilyas, 2007). Karakteristik kapang endofit secara mikroskopis diamati dengan menggunakan mikroskop. Jamur endofit dipotong lalu diletakkan di atas kaca objek dan ditetesi dengan 1 tetes metilenblue kemudian tutup dengan kaca penutup. Diamati adanya pertumbuhan hifa adanya sekat pada hifa, pigmentasi hifa, bentuk hifa (Ilyas, 2007; Dawolo dkk., 2017).

Peremajaan mikroba uji

Peremajaan mikroba uji seperti bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan fungi *Candida albicans* bertujuan untuk memulai metabolisme kembali. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasikan secara aseptis pada media NA miring, sedangkan *Candida albicans* diinokulasikan secara aseptis pada media PDA miring, kemudian diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam (Wijayati dkk., 2014).

Pembuatan suspensi mikroba uji

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan fungi *Candida albicans* dibuat suspensi mikroba uji 10^9 CFU/ml terlebih dahulu sesuai dengan kekeruhan McFarland III. Cara membuat suspensi mikroba uji yaitu diinokulasikan masing-masing 1 ose koloni murni dari hasil peremajaan yang berumur 24 jam. Inokulum diencerkan dengan menggunakan natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,9% kemudian dikocok dengan vortex. Kekeruhan suspensi mikroba disetarakan dengan menggunakan larutan standar McFarland III sehingga kekeruhannya menjadi 10^9 CFU/ml.

Suspensi mikroba uji 10^9 CFU/ml kemudian diencerkan sampai didapatkan kekeruhan suspensi mikroba uji 10^6 CFU/ml. Pengenceran dilakukan dengan cara hasil suspensi mikroba uji 10^9 CFU/ml diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9% kemudian divortex sehingga diperoleh suspensi mikroba uji 10^8 CFU/ml. Hasil suspensi mikroba uji 10^8 CFU/ml dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9% kemudian di vortex sehingga diperoleh suspensi mikroba uji 10^7 CFU/ml dan hasil suspensi 10^7 CFU/ml dipipet 1 ml masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9% kemudian divortex sehingga diperoleh suspensi mikroba uji 10^6

CFU /ml (Radji, 2006).

Seleksi kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba

Seleksi kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba dilakukan dengan diinokulasikan 1 potongan isolat kapang murni ke dalam cawan petri media PDA yang telah mengandung *Candida albicans* dan cawan petri media NA yang telah mengandung *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kandungan mikroba patogen setiap kultur 10^6 CFU/ml, kemudian diinkubasi selama 4 hari pada suhu ruang. Potensi aktivitas antimikroba kapang endofit ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk (Elfina dkk., 2014).

Produksi metabolit sekunder kapang endofit

Produksi metabolit sekunder kapang endofit dilakukan dengan menyiapkan tiga koloni murni kapang endofit hasil seleksi yang menghasilkan antimikroba tertinggi, dipotong sebanyak 3 potong dengan diameter 1 cm, kemudian diinokulasikan ke dalam media fermentasi yang berisi 20 ml PDB di dalam erlenmeyer ukuran 100 ml. Kultur kapang endofit diinkubasi pada suhu ruang dalam *orbital shaker* dengan agitasi 150 rpm selama 5 hari, selanjutnya dilakukan penyamplingan kultur setiap 6 jam dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril. Supernatan hasil penyamplingan dipisahkan dari biomassa dengan cara sentrifugasi pada

kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan dimasukkan kembali ke dalam tabung eppendorf steril dan disimpan dalam refrigerator untuk selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikrobanya (Elfina dkk., 2014).

Uji aktivitas antimikroba

Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan media Nutrient Agar (NA) dengan metode difusi secara kertas cakram. Kertas cakram yang sudah disterilkan direndam dalam supernatan kultur kapang endofit di dalam cawan petri selama 30 menit. Kertas cakram yang sudah direndam dengan supernatan dipindahkan dengan menggunakan pinset steril ke dalam media yang telah berisi mikroba uji. Masing-masing cawan petri berisi 5 kertas cakram, sebagai kontrol positif digunakan antibiotik baku kloramfenikol konsentrasi $30\mu\text{g/ml}$ dan sebagai kontrol negatif digunakan aquadest steril. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 18 jam-24 jam pada suhu 37°C . Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong dan dibandingkan dengan zona hambat yang dibentuk oleh baku pembanding (kontrol positif), jika terdapat zona hambat menandakan adanya potensi sebagai antimikroba (Noverita dkk., 2009).

Uji aktivitas anti jamur terhadap *Candida albicans* menggunakan media Potato Dextrose Agar (PDA) dengan metode difusi secara kertas cakram. Kertas cakram steril

direndam dalam supernatan kapang endofit di dalam cawan petri selama 30 menit. Kertas cakram yang sudah direndam dengan supernatan dipindahkan dengan menggunakan pinset steril ke dalam medium uji. Masing-masing cawan petri berisi 5 kertas cakram, sebagai kontrol positif digunakan antibiotik baku ketokonazol konsentrasi 10 µg/ml dan sebagai kontrol negatif digunakan aquadest steril. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 18 jam-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong jika terdapat zona hambat menandakan adanya potensi sebagai antimikroba (Khairiah dkk, 2017; Noverita dk., 2009)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba diawali dengan pengambilan sampel diambil secara acak sebanyak 5 helai daun tua (D1,D2,D3,D4,D5) dan 1 batang (B) yang berupa dahan. Daun tua lebih banyak kapang endofit yang tumbuh dari pada daun yang masih muda dikarenakan umur daun mempengaruhi kepadatan kapang endofit yang tumbuh (Hilarino dkk., 2011). Kemudian sampel disterilkan yang bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang ada pada permukaan sampel dengan cara dicuci hingga bersih dan dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm² dan kemudian direndam kedalam etanol 75% selama 2 menit, kedalam larutan hipoklorit 5,3% selama 5 menit dan kedalam etanol 75% selama 30 detik setelah itu dibilas

menggunakan aquadest (Sunkar dkk., 2017; Hafsari dan Asterina, 2013). Bilasan aquadest pada bilasan terakhir digunakan sebagai kontrol negatif bertujuan untuk memastikan bahwa kapang yang tumbuh merupakan kapang endofit (Suhartina dkk., 2018). Proses sterilisasi menggunakan etanol yang mempunyai spektrum sempit sehingga perlu dikombinasikan dengan bahan kimia seperti larutan hipoklorit yang digunakan sebagai desinfektan (Agusta, 2009).

Media yang digunakan pada isolasi kapang endofit yaitu PDA (Potato Dextrose Agar). Media PDA merupakan media selektif terhadap kapang endofit yang kaya akan nutrisi seperti dextrose dan kentang dapat mempercepat pertumbuhan kapang endofit. Pada media PDA umumnya sekitar hari ke tiga atau hari keempat koloni kapang endofit akan mulai tumbuh (Agusta, 2009). Pada penelitian ini kontrol negatif tidak terdapat kapang yang tumbuh yang berarti kapang yang tumbuh benar kapang endofit.

Hasil isolasi kapang endofit pada daun dan batang tanaman kayu putih (*M. Leucadendron* Linn) dari 6 sampel didapatkan 2 isolat kapang endofit yaitu daun 3 (D3) dan daun 5 (D5). Pada isolat daun 5 (D5) terdapat 2 morfologi kapang yang berbeda yaitu warna hijau (D5KH) dan putih (D5KP), kemudian dilakukan pemurniaan. Tujuan dari pemurniaan kapang endofit yaitu untuk mendapatkan satu jenis kapang endofit yang murni, jika dalam satu cawan petri yang berisi media masih terdapat pertumbuhan koloni

yang berbeda maka harus dipisahkan kembali hingga diperoleh isolat murni. Pemurniaan menunjukkan bahwa kapang yang tumbuh merupakan kapang isolat murni bukan kapang kontaminan (Fajrina dkk., 2020). Pemurniaan kapang endofit dilihat berdasarkan warna dan bentuk kapang endofit (Suhartina dkk., 2018).

Hasil pemurniaan isolat kapang endofit didapatkan 3 isolat murni yaitu daun 3 (D3), daun 5 kapang putih (D5KP) dan daun 5 kapang hijau (D5KH). Hasil pemurnian ini selanjutnya ditanamkan dalam media PDA miring sebagai kulltur atau kultur stok dan disimpan didalam lemari pendingin. Kultur kerja ini berikutnya dapat digunakan saat seleksi dan uji aktifitas antimikroba.

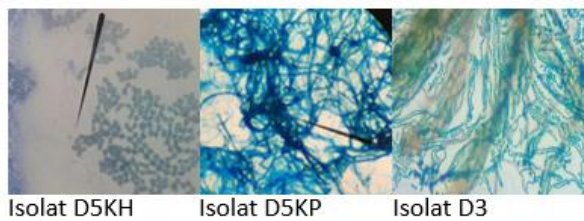
Isolat kapang endofit yang sudah murni kemudian diamati karakteristik kapang endofit secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis kapang endofit yang tumbuh akan menghasilkan jenis isolat yang bervariasi baik warna koloni, tekstur koloni dan bentuk koloni yang berbeda. Hal ini disebabkan karena mekanisme adaptasi yang dilakukan kapang endofit terhadap mikroekologi dan kondisi fisiologi dari tanaman inangnya (Putri dkk., 2016; Noverita dkk., 2009). Dari hasil pengamatan karakteristik makroskopis isolat daun 5 kapang putih (D5KP) memiliki permukaan koloni berwarna putih serta warna balik koloni putih, permukaan koloni rata, berserabut seperti kapas, pertumbuhan koloni tidak berzonasi, tidak ada tetes eksudat, tidak ada garis-garis radial dan diameter

pertumbuhan isolat ini yaitu 2 cm (Gambar 1).



Gambar 1. Karakteristik Makroskopis Isolat Kapang Endofit.

Karakteristik mikroskopik dilakukan dibawah mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan pewarna methylenblue agar bentuk sel yang diamati dapat terlihat dengan jelas. Isolat daun 5 kapang putih (D5KP) bentuk hifanya bercabang dan tidak bersekat. Pada isolat daun 5 kapang hijau (D5KH) karakteristik makroskopisnya memiliki warna koloni hijau tua, warna balik koloni hijau, permukaan koloni menggunung seperti tepung, pertumbuhan koloni tidak berzonasi, tidak ada tetes eksudat, tidak ada garis-garis radial dan pertumbuhan isolat ini berdiameter 1,5 cm. Karakteristik mikroskopis terlihat bentuk hifanya tidak bercabang dan bersekat. Pada Isolat daun 3 (D3) karakteristik makroskopis yaitu memiliki warna koloni hijau tua, warna balik koloni hijau tua, permukaan koloni menggunung seperti tepung, pertumbuhan koloni tidak berzonasi, tidak ada tetes eksudat, tidak ada garis-garis radial dan pertumbuhan isolat ini berdiameter 1,4 cm. Karakteristik mikroskopis yaitu bentuk hifanya tidak bercabang dan bersekat. Hasil karakteristik mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 2.

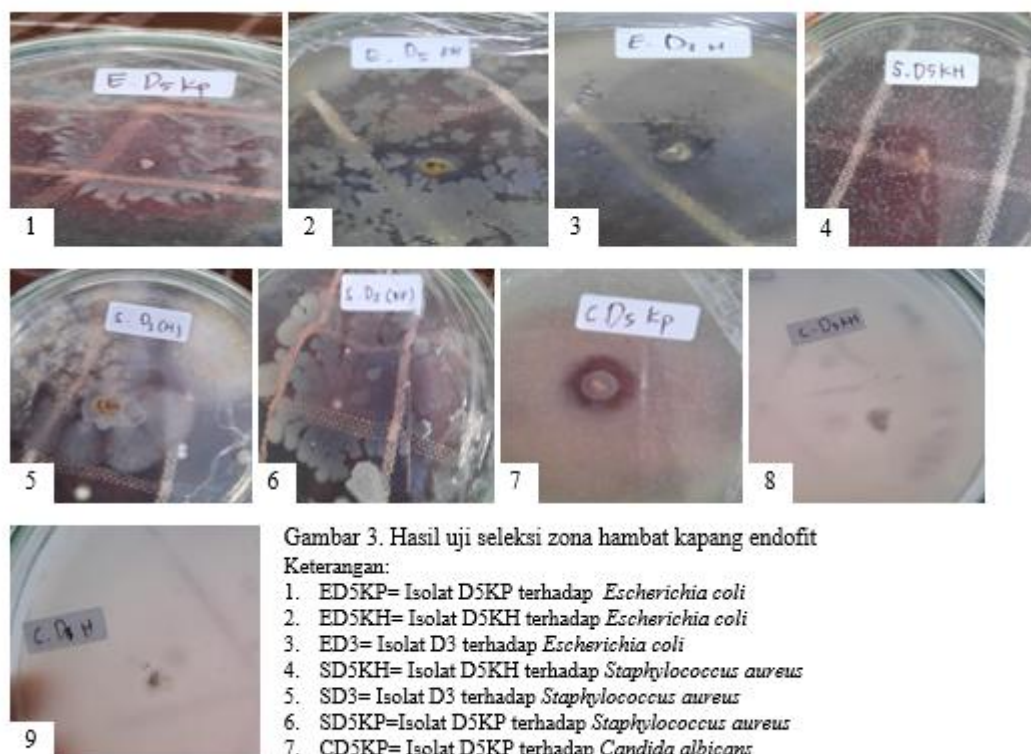


Gambar 2. Karakteristik Mikroskopis Isolat Kapang Endofit

Seleksi kapang endofit dilakukan bertujuan untuk mengetahui isolat kapang endofit yang memiliki aktivitas antimikroba. Seleksi kapang endofit dilakukan dengan metode difusi agar. Metode difusi agar digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba pada isolat kapang dengan melihat zona hambat yang terbentuk (Fibra nurainy, 2008). Seleksi kapang endofit pada penelitian ini dilakukan terhadap 3 isolat yaitu isolat murni daun 5 kapang putih (D5KP), daun 5 kapang hijau (D5KH) dan daun 3

(D3). Mikroba uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Hasil isolat daun 5 kapang putih (D5KP) menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *E-coli* berdiameter 1,7 mm dan terhadap jamur *C. albicans* berdiameter 7 mm. Isolat daun 5 kapang hijau (D5KH) menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *E-coli* berdiameter 2,5 mm dan isolat daun 3 (D3) menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *E-coli* berdiameter 2,5 mm. Faktor yang mempengaruhi kemampuan senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu komposisi dan struktur dinding sel bakteri (Zakiyah dkk., 2016). Hasil seleksi kapang endofit yang berpotensi sebagai antibakteri dapat dilihat di Gambar 3



Gambar 3. Hasil uji seleksi zona hambat kapang endofit

Keterangan:

1. ED5KP= Isolat D5KP terhadap *Escherichia coli*
2. ED5KH= Isolat D5KH terhadap *Escherichia coli*
3. ED3= Isolat D3 terhadap *Escherichia coli*
4. SD5KH= Isolat D5KH terhadap *Staphylococcus aureus*
5. SD3= Isolat D3 terhadap *Staphylococcus aureus*
6. SD5KP= Isolat D5KP terhadap *Staphylococcus aureus*
7. CD5KP= Isolat D5KP terhadap *Candida albicans*
8. CD5KH= Isolat D5KH terhadap *Candida albicans*
9. CD3= Isolat D3 terhadap *Candida albicans*

Data hasil penelitian seleksi kapang endofit menunjukkan adanya aktivitas pada 3 isolat murni terhadap mikroba uji. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat yang berada di sekeliling kapang endofit. Diameter zona hambat yang terbentuk karena adanya aktivitas metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Zona hambat merupakan parameter aktivitas antimikroba yang mempunyai diameter hambat pada pertumbuhan bakteri patogen (Elfina dkk., 2014). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan diameter zona hambat yaitu setiap isolat kapang endofit mempunyai sifat-sifat yang berbeda baik secara morfologi maupun fisiologi, perbedaan kandungan serta senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit sebagai antibakteri (Dharmawan dkk., 2014).

Setelah melakukan seleksi kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba, kemudian dilanjutkan proses fermentasi. Fermentasi dilakukan secara aseptis agar terhindar dari kontaminasi dan untuk memproduksi metabolit sekunder dari kapang endofit. Fermentasi dilakukan selama 5 hari karena dari hasil pengamatan peremajaan kapang telah melalui fase stasioner. Hasil fermentasi kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan supernatan dan biomassa yang selanjutnya dilakukan uji aktifitas antimikroba.

Fermentasi kapang endofit menggunakan media cair karena lebih efektif untuk mendapatkan biomassa dibandingkan

dengan media padat (Nurhidayah dkk., 2014). Media fermentasi yang digunakan yaitu PDB (potato dekstros broth) memiliki kandungan sumber karbon, yeast dan extract sebagai nitrogen (Elfina dkk., 2014). Media fermentasi memiliki pH 6 karena yang pH optimal untuk pertumbuhan kapang dan produksi metabolit sekunder yaitu 6. Tingkat pH Media fermentasi dapat mempengaruhi fungsi membran sel, struktur sel, morfologi serta produksi biosintesis sehingga pH sangat penting untuk pertumbuhan kapang karena enzim-enzim dapat mengurai dengan substrat sesuai pH tertentu (Gandjar, 2006).

Uji aktivitas antimikroba pada hasil fermentasi isolat kapang endofit dilakukan dengan metode difusi agar atau biasa disebut metode kertas cakram (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas antimikroba menggunakan satu bakteri uji dan satu khamir patogen yaitu *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif dan *Candida albicans* merupakan khamir patogen (Pratiwi, 2008). Bakteri *E. coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan dan secara fisiologi *E. coli* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup di air tawar, air laut, atau di tanah. Patogenesis *E. coli* yaitu melemahnya usus sehingga bakteri mudah menyerang jaringan dinding usus yang menyebabkan diare pada usus manusia, infeksi saluran kemih (Desmarchelier dan Fegan, 2016).

Candida albicans merupakan khamir yang dipilih karena dapat menyebabkan patogenesis penyakit Candidiasis. Beberapa

spesies candida yang banyak menginfeksi manusia dan hewan yaitu *Candida albicans*, yang dapat menginfeksi di antaranya kulit, kuku, selaput lendir, saluran cerna, rongga mulut dan organ dalam (Jawetz, 2017; Indrayati dan Sari, 2018).

Aktivitas antimikroba ini tidak menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* karena pada tahapan seleksi tidak didapatkan hasil pada bakteri uji *S. auerus*. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg/ml dan ketokonazol dengan konsentrasi 10 µg/ml. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif (Jawetz, 2017). Ketokonazol adalah antijamur yang digunakan untuk pengobatan kandidiasis dan ketokonazol merupakan turunan imidazol yang memiliki aktivitas antifungi yang efektif terhadap dermatofit, ragi, misalnya *Tricophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *C. albicans* (Bertram G Katzung, 2010).

Pada proses isolasi metabolit sekunder dari hasil uji aktivitas antimikroba didapat 3 isolat yaitu D5KH, D5KP, D3 yang mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan D5KP juga mempunyai aktifitas terhadap *Candida albicans*, dapat dilihat pada grafik gambar 4 (Gambar 4.1, 4.2, 4.3 dan 4.4).

Pada isolat daun 5 kapang hijau (D5KH) didapatkan hasil memiliki diameter hambat tertinggi pada uji aktivitas

antimikroba terhadap *E-coli* sebesar 4,6 mm pada jam ke 72 (hari ke-4) sedangkan untuk kontrol positifnya yaitu kloramfenikol diameter hambat 6,0 mm. dari data ini terlihat kalau sifat anti mikrobya mendekati antibiotik kloramfenikol. Menurut Mukhlis dan Hendri (2018), kapang endofit pada hari ke 4 sudah memasuki fase stasioner di mana fase ini menghasilkan metabolit sekunder. Dilihat dari grafik isolat daun 5 kapang hijau D5KH terhadap *E-coli* mengalami peningkatan dari jam ke 18 sampai 72 dengan diameter hambat 1,5 mm sampai 4,6 mm. Pada jam ke 54 dan 66 diameter hambat menjadi konstan sebesar 4,0 mm.

Hasil uji aktivitas antimikroba isolat daun 5 kapang putih (D5KP) terhadap bakteri uji *E-coli* didapatkan diameter hambat tertinggi yaitu sebesar 4,8 mm pada jam ke 54 sedangkan kontrol positif kloramfenikol diameter hambatnya 5,5 mm. Dari data grafik isolat daun 5 kapang putih (D5KP) terhadap *Escherichia coli* pada jam 18 sampai 54 mengalami peningkatan dengan diameter hambat 2,2 mm sampai 4,8 mm.

Isolat daun 3 (D3) terhadap *E-coli* didapatkan hasil uji aktivitas antimikroba diameter hambat yang paling tinggi yaitu 4,5 mm pada jam ke 72 sedangkan kontrol positif kloramfenikol diameter hambat yaitu 5,5 mm. Hasil data grafik isolat D3 terhadap *E. coli* mengalami peningkatan antimikroba pada jam 18 sampai dengan 72 dengan diameter hambat 1,2 mm sampai 4,5 mm.

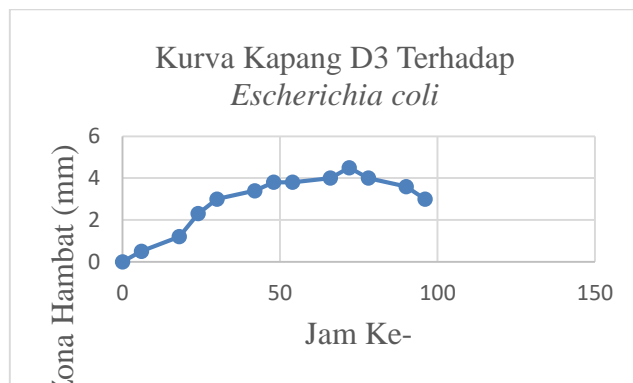
Pada isolat daun 5 kapang putih

(D5KP) terhadap *C. albicans* didapatkan hasil uji aktivitas antimikroba diameter hambat tertinggi yaitu 3,6 mm pada jam ke 54 sedangkan kontrol positif ketokonazol berdiameter hambat 5,0 mm. Dari hasil kurva isolat daun 5 kapang putih (D5KP) terhadap *C. albicans* mengalami peningkatan pada jam 18 sampai jam ke 54 dengan diameter hambat 1,2 sampai 3,5 mm.

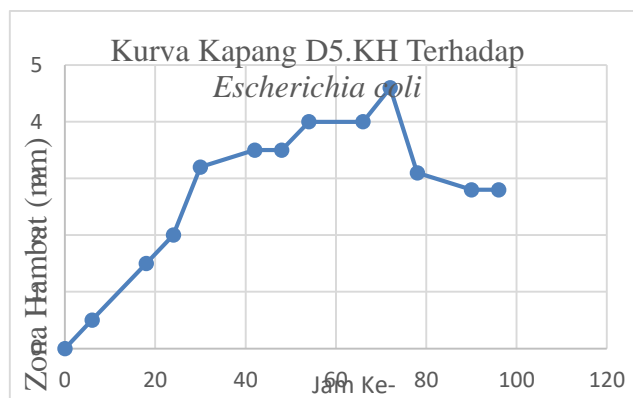
Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba kapang endofit terhadap bakteri *E.coli* dan fungi *C. albicans* yang diisolasi dari daun kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) menunjukkan aktivitas yang berbeda-beda dari setiap isolat dalam menghasilkan metabolit sekunder antibakteri. Pembentukan metabolit sekunder antibakteri ditandai dengan zona hambat yang terbentuk. Zona hambat terbentuk dikarenakan kapang endofit yang sudah difermentasi dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder secara ekstraseluler melalui hifa yang berdifusi pada medium saat proses fermentasi dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji (Devi dkk., 2021). Dari ke empat isolat semuanya menunjukkan kategori zona hambat lemah karena diameter <5 mm (Masfufah dkk., 2019). Besar kecilnya daya hambat kapang endofit terhadap mikroba patogen disebabkan oleh metabolit sekunder yang dihasilkan isolat kapang endofit. Semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang dihasilkan maka semakin tinggi daya hambat yang ditunjukkan oleh pertumbuhan koloninya (Sunariasih dkk., 2014). Kapang endofit daun

kayu putih memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa antimikroba.

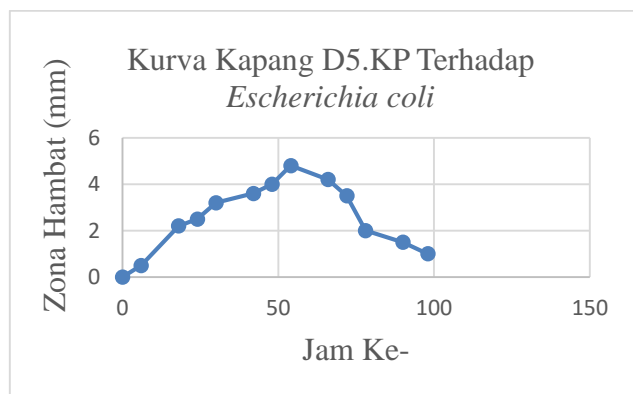
Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kapang endofit pada daun kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) memiliki aktivitas antimikroba dan mempunyai potensi untuk dikembangkan lagi dengan penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan senyawa antimikroba. Pada penelitian lainnya telah dilakukan uji aktivitas antimikroba ekstrak daun kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) sebagai antibakteri secara in vitro yang memiliki aktivitas antibakteri antara lain *S. aureus*, *E. coli*, MRSA, dan *B. Spizizenii*. Setiap isolat kapang endofit memiliki senyawa metabolit yang sama dengan ekstrak daun kayu putih (*M. leucadendron* Linn.) yaitu flavonoid, fenol, tanin dan terpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri (Tria dkk., 2020). Hal ini dikarenakan kapang endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit yang sama seperti senyawa tanaman inangnya karena ada kemungkinan terjadinya transfer genetik antara tanaman inang dengan mikroba endofit (Jamilatun dan Shufiyani, 2019). Hasil penelitian pada daun tanaman kayu putih dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama seperti tanaman inangnya maka kapang endofit daun kayu putih memiliki aktivitas sebagai antimikroba.



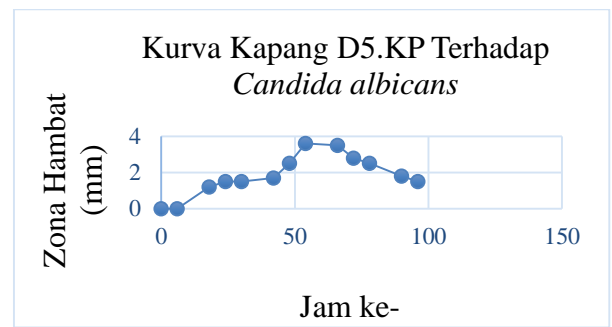
Gambar 4.1. Kurva Aktivitas Zona Hambat Kapang D3 Terhadap *Escherichia coli*



Gambar 4.2. Kurva Aktivitas Zona Hambat Kapang D5.KH Terhadap *Escherichia coli*



Gambar 4.3. Kurva Aktivitas Zona Hambat Kapang D5.KP Terhadap *Escherichia coli*



Gambar 4.4. Kurva Aktivitas Zona Hambat Kapang D5.KP terhadap *Candida albicans*

KESIMPULAN

Terdapat tiga isolat yang dihasilkan dari isolasi kapang endofit pada daun dan batang dari tanaman Kayu putih (*Melaleuca leucadendron* linn) yaitu: D5KH, D5KP dan D3. Dari 3 isolat yang memiliki aktifitas antimikroba yang tertinggi adalah isolat daun 5 kapang putih (D5KP) terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 4,8 mm.

Identifikasi secara molecular perlu dilakukan untuk mengetahui spesies isolat kapang endofit tanaman Kayu putih yang memiliki aktifitas antimikroba, dan pengujian terhadap mikroba patogen lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan kegiatan penelitian ini, yaitu :

1. Bapak Dr. Ir. Arief Kusuma AP., MBA, selaku Rektor Universitas Esa Unggul.
2. Ibu Prof. Dr. apt. Aprilita Rina Yanti Eff, M.Biomed, selaku Dekan Fakultas Ilmu- ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul.
3. Ibu Dr. apt. Sri Teguh Rahayu, M.Farm., selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Esa Unggul.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. (2009). *Biologi & Kimia Jamur Endofit* (Vol. 1). Penerbit ITB.
- Bertram G Katzung. (2010). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Appres.
- Dawolo, B., Puspita, F., & Armaini. (2017). Identifikasi jamur endofit dari tanaman karet dan uji In-vitro anti mikroba terhadap *Rigidoporus microporus*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian*, 4(2), 1–11.
- Desmarchelier, P., & Fegan, N. (2016). Pathogens in Milk: *Escherichia coli*. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00989-6>
- Devi, Anggraeni, & Wahyuni, T. (2021). Isolasi kapang endofit pelawan (*Tristaniopsis merguensis* griff.) yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 14(2), 195–206.
- Dharmawan, I. W. E. K. A., Kawuri, R., & Parwanayoni, M. S. (2014). Isolasi *Streptomyces* Spp. Pada Kawasan Hutan Provinsi Bali Serta Uji Daya Hambatnya Terhadap Lima Strain *Diarrheagenic Escherichia Coli*. *Jurnal Biologi*, 13(1). <https://doi.org/10.5072/FK2/R0X17G>
- Elfina, D., Martina, A., & Roza, R. M. (2014). Isolasi Dan Karakterisasi Fungi Endofit Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L) Sebagai Antimikroba Terhadap *Candida Albicans*, *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau*, 1(1).
- Fajrina, A., Dinni, D., Bakhtra, A., & Mawarni, A. E. (2020). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit dari Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1).
- Fibra nurainy, samsul rizal dan yudiantoro. (2008). Terhadap Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi. *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*, 13(2), 117–125.
- Gandjar, I., Wellyzar S., A. O. (2006). *Mikologi : Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia.
- Hafsari, A. R., & Asterina, I. (2013). Isolasi Dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Obat Surian (*Toona Sinensis*). *Edisi Agustus*, VII(2), 175–191.
- Hakim, R. I., Wilson, W., & Darmawati, S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ethanol Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L.) terhadap Pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*, 2, 109–115.
- Hilarino, M. P. A., Silveira, F. A. de O. e,

- Oki, Y., Rodrigues, L., Santos, J. C., Corrêa Junior, A., Fernandes, G. W., & Rosa, C. A. (2011). Distribution of the endophytic fungi community in leaves of *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 25(4), 815–821. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062011000400008>
- Ilyas, M. (2007). Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang pada Sampel Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Gunung Lawu, Surakarta, Jawa Tengah. *Biodiversitas*, 8(2), 105–110.
- Indrayati, S., & Sari, R. I. (2018). Gambaran *Candida Albicans* Pada Bak Penampung Air Di Toilet Sdn 17 Batu Banyak Kabupaten Solok. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 5(2), 133–138. <https://doi.org/10.33653/jkp.v5i2.148>
- Jamilatun, M., & Shufiyani, S. (2019). Isolasi Dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Alang-Alang (*Imperata Cylindrica* (L.) Beauv.). *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 6(1), 27–36. <https://doi.org/10.36743/medikes.v6i1.92>
- Jawetz, E., Menick, J.L., dan A. E. (2017). *Mikrobiologi Kedokteran* (27th ed.). Penerbit EGC.
- Jayanta Kumar Patra, G. Das. (2018). *Microbial Biotechnology* (Vol. 2). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Khairiah, N., & Nintasari, R. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Kapang Endofit dari Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri* Teijsm & Binn.). *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, 9(2), 65–74. <http://10.1.0.55/jrihh/article/view/3373>
- Masfufah, Ardiningsih, P., & Jayuska, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Dari Isolat Bakteri Endofit B.E2 Daun Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap *S. Typhimurium* Dan *S. Aureus*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(1), 79–85. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmi pa/article/view/34225>
- Mukhlis, D. K., & Hendri, M. (2018). Isolasi Dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Pada Mangrove *Rhizophora Apiculata* Dari Kawasan Mangrove Tanjung Api-Api Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Maspari Journal*, 10(2), 151–160.
- Noverita, Fitria, D., & Sinaga, E. (2009). Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 171–176.
- Nurhidayah, Hasanah, U., & Idramsia. (2014). Pengaruh ekstrak metabolit sekunder jamur endofit tumbuhan *cotylelobium melanoxylon* dalam menghambat pertumbuhan mikroba protein. *Seminar Nasional Biologi Dan Pembelajarannya*, 308–317.
- Patra, J. K., Das, G., & Shin, H. (2018). *Microbial Biotechnology* (Vol. 2). ©

- Springer Nature Singapore.
- Pratiwi, S. T. (2008). Mikrobiologi Farmasi, Erlangga. In *Jakarta* (Vol. 150). Penerbit Erlangga.
- Prihatiningtias, W., & Wahyuningsih, M. S. H. (2006). Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*.
- Pujiarti, R., Ohtani, Y., & Ichiura, H. (2011). Physicochemical properties and chemical compositions of *Melaleuca leucadendron* leaf oils taken from the plantations in Java, Indonesia. *Journal of Wood Science*, 57(5), 446–451. <https://doi.org/10.1007/s10086-011-1183-0>
- Putri, V. A. ., Posangi, J., Nangoy, E., & Bara, R. A. (2016). Uji daya hambat jamur endofit rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal E-Biomedik*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/e-bm.4.2.2016.14665>
- Radji, M. (2006). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi Edisi Kedua*. Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Rahmi, A., Dan, H., Asterina, I., Biologi, J., Sains, F., Uin, D. T., Gunung, S., & Bandung, D. (2013). Isolasi Dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Obat Surian (*Toona Sinensis*). *Edisi Agustus*, VII(2), 175–191.
- Rianto, A., Isrul, M., Anggarini, S., & Saleh, A. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(02), 109–121. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i02.34>
- Suhartina, Kandou, F. E. F., & Singkoh, M. F. O. (2018). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. *Jurnal MIPA*, 7(2), 24. <https://doi.org/10.35799/jm.7.2.2018.20640>
- Sunariasih, N. P. L., Suada, I. K., & Suniti, N. W. (2014). Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Padi dan Uji Daya Hambatnya terhadap *Pyricularia oryzae* Cav. Secara in Vitro. *E-Jurnal Agroekoreknologi Tropika*, 3(2), 51–60.
- Sunkar, S., Sibitha, V., Valli Nachiyar, C., Prakash, P., & Renugadevi, K. (2017). Bioprospecting endophytic fungus *Colletotrichum* sp. isolated from *Artocarpus heterophyllus* for anticancer activity. *Research Journal of Biotechnology*, 12(2), 46–56.
- Tria, S., Joen, N., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2020). Efektivitas Ekstrak Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L .) sebagai Antibakteri secara In Vitro Effectiveness of

- Eucalyptus Leaf Extract (*Melaleuca leucadendron* L .) as Antibacterial by In Vitro. *Majority*, 9(2), 45–48.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., & Artikel, I. (2014). Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(1),24–28.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v6i1.2931>
- Zakiah, A., Radiastuti, N., & Sumarlin, L. O. (2016). Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd.). *AL-Kauniah: Jurnal Biologi*,8(2).<https://doi.org/10.15408/kauniah.v8i2.2690>
- Zhang, J., Wu, H., Jiang, D., Yang, Y., Tang, W., & Xu, K. (2019). The antifungal activity of essential oil from *Melaleuca leucadendra* (L.) L. grown in China and its synergistic effects with conventional antibiotics against *Candida*. *Natural Product Research*, 33(17), 2545–2548.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1448979>