

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 *Determinasi Batang Tanaman Kangkung Darat*

Batang tanaman Kangkung darat diperoleh di pasar sayur Surabaya Timur pada bulan Oktober 2021. Determinasi dilakukan oleh Layanan Jasa dan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dengan menggunakan pustaka Backer (1965) dan Bailey (1950).

Kingdom : Plantae  
Sub-kingdom : Tracheobionta  
Divisi : Spermatophyta  
Sub-Divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Sonales  
Suku : Convolvulaceae  
Genus : Ipomoea  
Jenis : *Ipomoea reptans* Poir.

##### 4.1.2 *Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis pada Batang Tanaman Kangkung Darat*

Batang tanaman Kangkung Darat segar yang telah dibersihkan dilakukan pengamatan makroskopis dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1 dan pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 4.2, Gambar 4.3, dan Gambar 4.4.

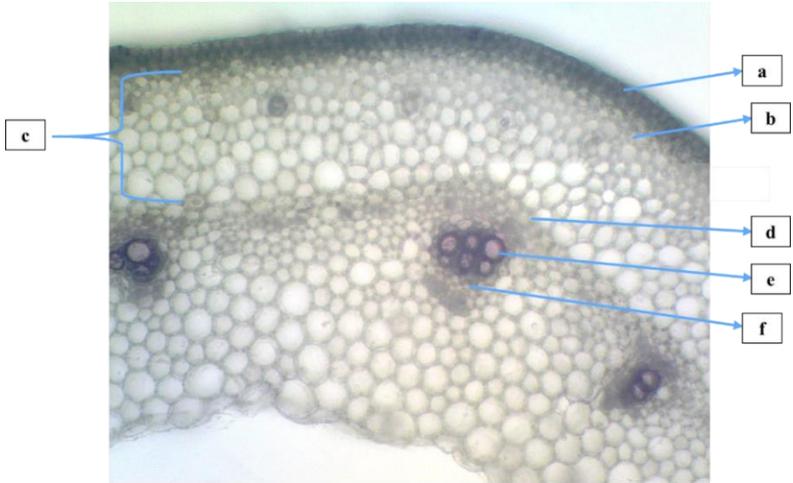


**Gambar 4.1** Pengamatan Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

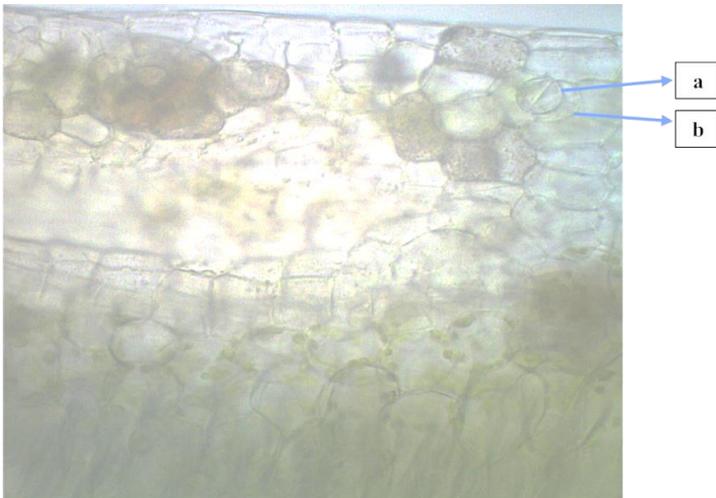
**Tabel 4.1** Pengamatan Makroskopis Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

| Karakteristik | Hasil Pengamatan | *Pustaka   | Keterangan |
|---------------|------------------|------------|------------|
| Warna         | Hijau            | Hijau      | Sesuai     |
| Panjang       | 30–35 cm         | 30-35 cm   | Sesuai     |
| Lebar         | 0,5-0,7 cm       | 0,5-0,8 cm | Sesuai     |

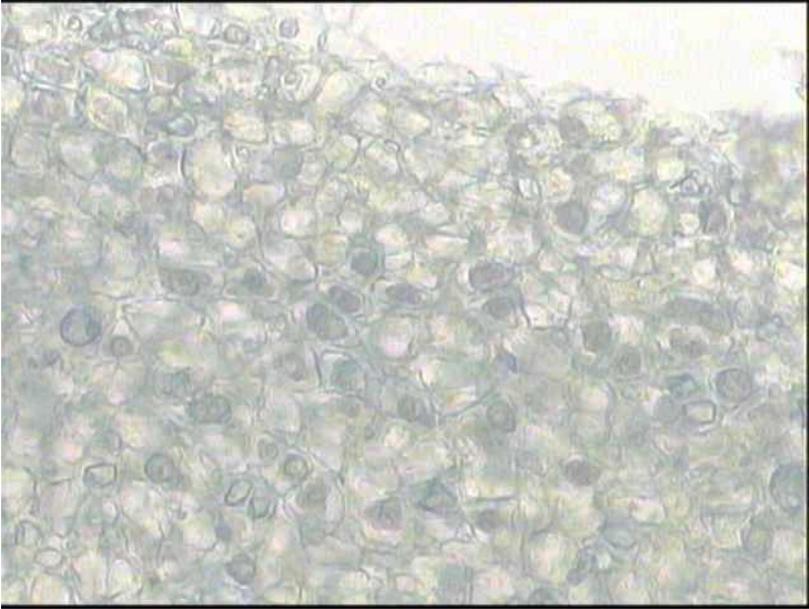
\*(Kresna, Sukerta dan Suryana, 2016)



**Gambar 4.2** Pengamatan Mikroskopis dalam Irisan Melintang Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dalam Kloralhidrat dan Floroglusin HCl pada Perbesaran 10x10. Keterangan: a. Epidermis, b. Kolenkim, c. Korteks, d. Endodermis, e. Xilem, f. Parenkim.



**Gambar 4.3** Stomata Tipe Parasitik dalam Irisan Membujur Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) pada Perbesaran 10x10. Keterangan: a. Sel Penutup, b. Sel Tetangga.

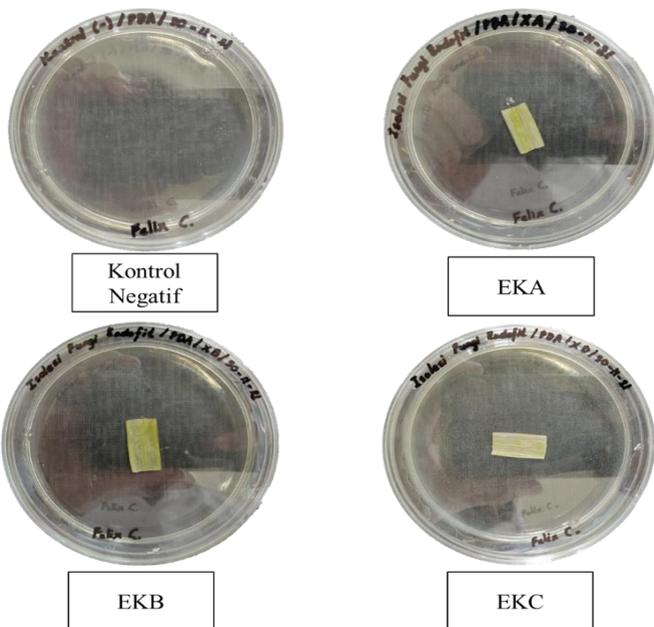


**Gambar 4.4** Kristal Ca Oksalat Berbentuk Prisma dalam Irisan Membujur Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) pada Perbesaran 40x10.

#### 4.1.3 *Isolasi Kapang Endofit dari Batang Tanaman Kangkung Darat (Ipomoea reptans Poir.)*

Proses isolasi kapang endofit dilakukan dengan cara menempelkan potongan batang kangkung yang telah disterilisasikan permukaannya dan dilukai pada lempengan media *Potato Dextrose Agar* seperti pada Gambar 4.5 dan koloni kapang yang telah tumbuh dapat dilihat pada Gambar 4.6. Dari hasil isolasi yang didapatkan 3 jenis berbeda dimasing-masing kode EKA, EKB, dan EKC. Hasil pengamatan kontrol sterilisasi pada batang Kangkung darat tidak ditemukan adanya koloni mikroba. Koloni kapang endofit yang tumbuh berbeda secara makroskopis diambil dan inokulasikan ke dalam media *Potato Dextrose Yeast broth* 1 mL dalam tabung reaksi, kemudian

diinkubasi pada suhu ruang selama 2-4 hari. Koloni yang telah tumbuh dipindahkan ke dalam media *Potato Dextrose Agar*. Proses ini dilakukan berulang kali hingga didapatkan koloni kapang endofit yang benar-benar murni atau tidak ada kapang endofit berbeda secara makroskopis yang tumbuh pada satu cawan petri.



**Gambar 4.5** Posisi Penanaman Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) pada Media *Potato Dextrose Agar*.

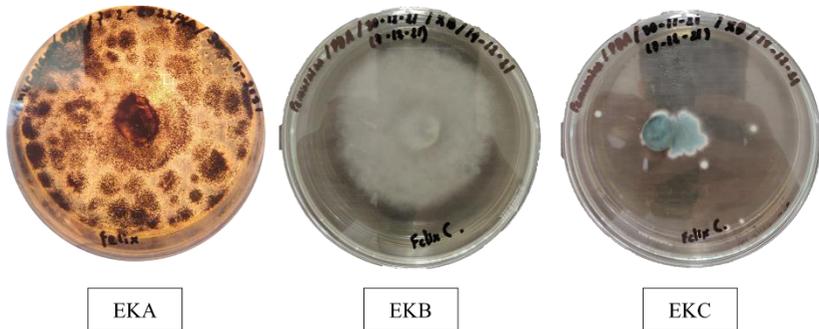


**Gambar 4.6** Pengamatan Pertumbuhan Kapang Endofit setelah Inkubasi pada Suhu Ruang Selama 7 hari.

#### 4.1.4 Pemurnian Kultur Kapang Endofit dari Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

Pada proses isolasi kapang endofit didapatkan 3 jenis kapang setelah proses isolasi dengan berdasarkan perbedaan makroskopis yang meliputi warna koloni, tipe koloni dan sifat permukaan koloni. Ketiga koloni kapang tersebut diambil dan dipindahkan kedalam media *Potato Dextrose Broth* 5 mL dalam tabung reaksi lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 2–14 hari. Kemudian koloni kapang endofit yang telah tumbuh pada media *Potato Dextrose Broth* diambil dan dipindahkan ke media *Potato Dextrose Agar* lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 2-14 hari. Proses tersebut dilakukan

berulang kali hingga diperoleh kultur kapang murni. Koloni kapang endofit yang telah murni dilakukan pengamatan makroskopis, mikroskopis, uji biokimia dan uji aktivitas antibakteri. Koloni kapang endofit yang telah murni dapat dilihat pada Gambar 4.7.



**Gambar 4.7** Kultur Kapang Endofit Murni dari Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.).

#### 4.1.5 Karakterisasi Kapang Endofit

- a. Pengamatan makroskopis kultur murni kapang endofit batang kangkung darat Tabel 4.2. Hasil pengamatan makroskopis isolat kapang endofit batang tanaman kangkung pada media *Potato Dextrose agar*.

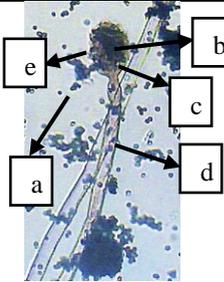
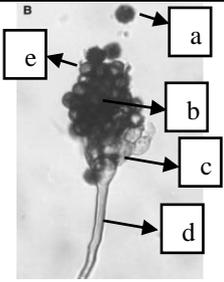
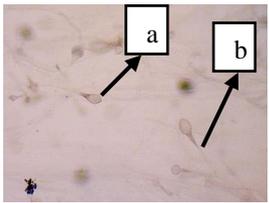
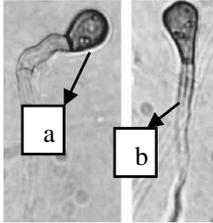
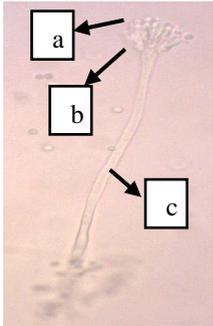
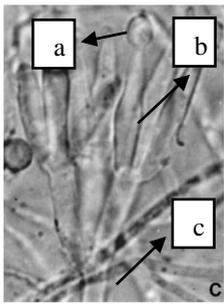
**Tabel 4.2** Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Kapang Endofit Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

| Makroskopis        |             |               |             |                        |                 |
|--------------------|-------------|---------------|-------------|------------------------|-----------------|
| Kapang Endofit     | Usia Koloni | Ukuran Koloni | Tipe Koloni | Sifat Permukaan Koloni | Warna Koloni    |
| EKA <sup>(a)</sup> | 7 hari      | 9 cm          | Filamen     | Puyer                  | Hitam           |
| EKB <sup>(b)</sup> | 7 hari      | 9 cm          | Filamen     | Kapas                  | Abu-abu         |
| EKC <sup>(a)</sup> | 7 hari      | 1,65 cm       | Filamen     | Beludru                | Hijau ke biruan |

\*Keterangan : (a) : Ristiari, Julyasih dan Suryanti, 2018  
(b) : Sulastri dan Puspita, 2014

- b. Pengamatan mikroskopis kultur murni kapang endofit batang kangkung darat Tabel 4.3. Hasil pengamatan mikroskopis isolat kapang endofit batang tanaman kangkung pada media *Potato Dextrose Agar*.

**Tabel 4.3** Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat Kapang Endofit Batang Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

| <b>Mikroskopis</b>    |  |  |   |
|-----------------------|--|--|---|
| <b>Kapang Endofit</b> | <b>Gambar</b>  | <b>Pustaka*</b>  | <b>Keterangan</b>   |
| EKA                   |   |   | <p>a. Spora<br/>b. Vesikel<br/>c. Fialid<br/>d. Konidiafor<br/>e. Konidia</p> |
| EKB                   |   |   | <p>a. Konidia<br/>b. Konidiafor</p>   |
| EKC                   |  |  | <p>a. Konidia<br/>b. Fialid<br/>c. Konidiafor</p>                             |

\*(Watanabe, 2002)

c. Uji Biokimia Kapang Endofit

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui dan mengelompokkan kapang endofit yang diperoleh ke dalam genus tertentu yang berdasarkan aktivitas enzimnya.

1. Uji Hidrolisa Amilum

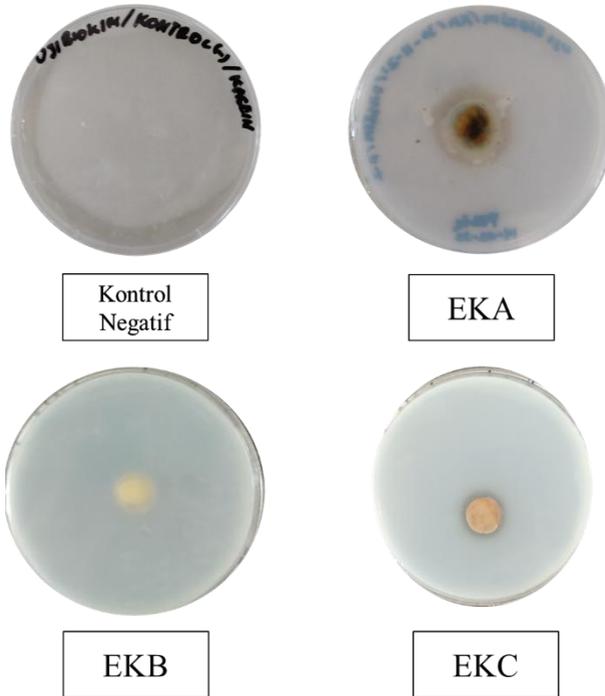
Pengamatan uji hidrolisa amilum yang dilakukan pada media *Starch Agar* dengan menuangkan 6 mL iodium pada permukaan lempengan agar yang telah diinokulasikan kapang endofit dan telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan hasil hidrolisa amilum dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi di sekitar koloni, perubahan warna biru tua di sekitar koloni dikatakan negatif dan hidrolisa dikatakan positif jika terbentuk warna merah kecoklatan (hidrolisa parsial) atau jernih (hidrolisa total) di sekitar koloni. Hasil hidrolisa amilum kapang endofit batang *Kangkung Darat* dapat dilihat pada tabel 4.4.



**Gambar 4.8** Hasil Uji Hidrolisa Amilum pada Kapang Endofit Batang Kangkung Darat pada Media *Strach Agar*.

## 2. Uji Hidrolisa Kasein

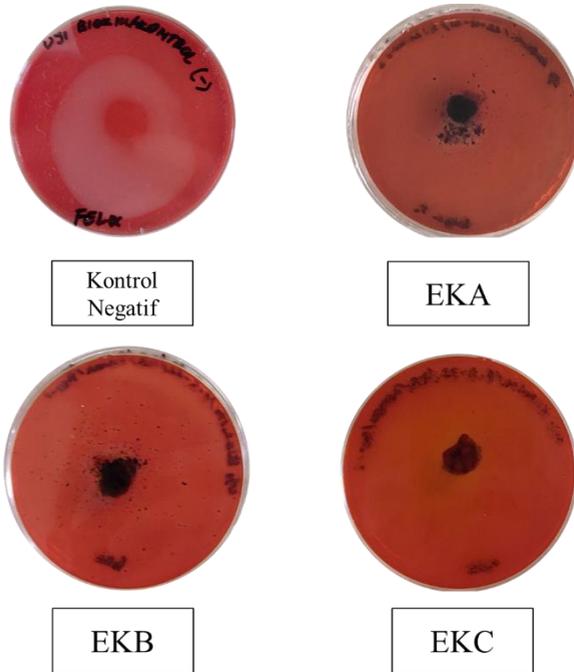
Pengamatan uji hidrolisa kasein yang dilakukan pada media *Skim Milk Agar* yang telah diinokulasikan kapang endofit dan telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan hasil hidrolisa kasein dilakukan dengan melihat terbentuknya daerah transparan di sekitar koloni. Hasil hidrolisa kasein kapang endofit batang Kangkung Darat dapat dilihat pada tabel 4.4.



**Gambar 4.9** Hasil Uji Hidrolisa Kasein pada Kapang Endofit Batang Kangkung Darat pada Media *Skim Milk Agar*.

### 3. Uji Hidrolisa Lemak

Pengamatan uji hidrolisa lemak yang dilakukan pada media *Neutral Red Agar* yang telah diinokulasikan kapang endofit dan telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan hasil hidrolisa lemak dilakukan dengan melihat terbentuknya warna merah di sekitar koloni. Hasil hidrolisa lemak kapang endofit batang Kangkung Darat dapat dilihat pada tabel 4.4.



**Gambar 4.10** Hasil Uji Hidrolisa Lemak pada Kapang Endofit Batang Kangkung Darat pada Media *Neutral Red Agar*.

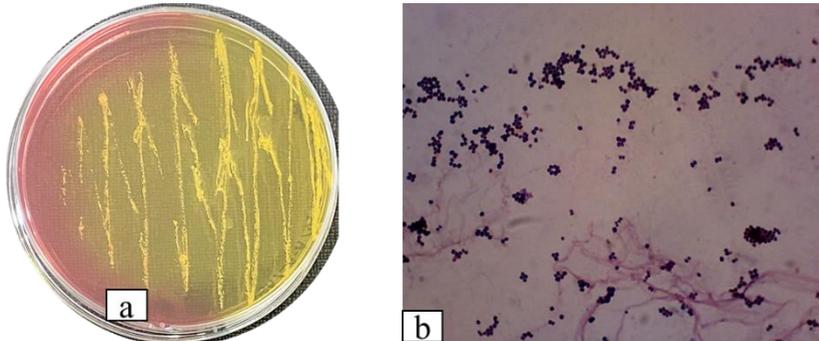
**Tabel 4.4** Hasil Pengamatan Uji Biokimia Isolat Kapang Endofit Batang Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

| <b>Kapang endofit</b> | <b>Hidrolisa</b> | <b>Hidrolisa</b> | <b>Hidrolisa</b> |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Kode</b>           | <b>Amilum</b>    | <b>Kasein</b>    | <b>Lemak</b>     |
| EKA                   | +                | +                | +                |
| EKB                   | +                | -                | +                |
| EKC                   | +                | +                | +                |

\*Keterangan: + : Hidrolisa Positif  
- : Hidrolisa Negatif

#### 4.1.6 *Persiapan Bakteri Uji Staphylococcus aureus ATCC 6538*

Bakteri yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri kapang endofit batang Kangkung Darat adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Kemurnian bakteri uji dipastikan dengan dilakukan pengamatan makroskopis pada media selektif yaitu *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan pengamatan mikroskopis dengan pengecatan Gram.



**Gambar 4.11** Hasil Pengamatan (a) Makroskopis Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pada Media *Manitol Salt Agar* (b) Mikroskopis Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan Pengecatan *Gram* pada Perbesaran 10x100.

**Tabel 4.5** Hasil Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pada Perbesaran 10x100 dengan Pengecatan Gram

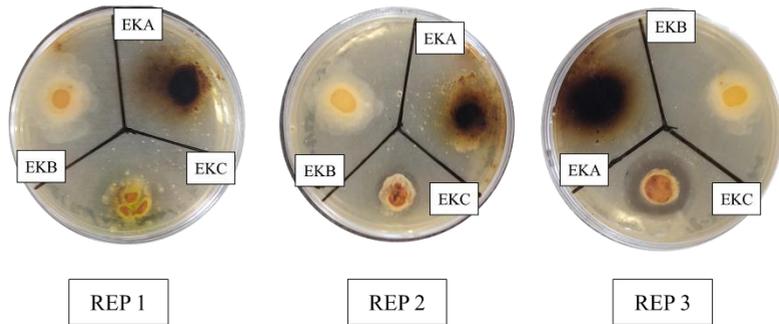
| Pengamatan  | Karakterisasi               | Hasil Pengamatan            | *Pustaka                       | Keterangan |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------|
| Makroskopis | Bentuk koloni               | Titik                       | Titik                          | Sesuai     |
|             | Ukuran Koloni               | <1 mm                       | <1 mm                          | Sesuai     |
|             | Kenaikan Permukaan          | Sedikit cembung             | Sedikit cembung                | Sesuai     |
|             | Tekstur koloni              | Opaque, halus dan mengkilat | Opaque, halus dan mengkilat    | Sesuai     |
|             | Tepi Koloni                 | Utuh                        | Utuh                           | Sesuai     |
|             | Warna koloni pada Media MSA | Kuning                      | Abu-abu hingga kuning keemasan | Sesuai     |
| Mikroskopis | Bentuk sel                  | Bulat                       | Bulat                          | Sesuai     |
|             | Susunan Sel                 | Bergerombol                 | Bergerombol                    | Sesuai     |
|             | Warna                       | Ungu                        | Ungu                           | Sesuai     |

\*(Brooks *et al*, 2013)

#### 4.1.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit Batang Kangkung Darat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Pengamatan uji aktivitas antibakteri pada kapang endofit yang telah dimurnikan dilakukan pada media *Plate Agar Count* (PCA). Pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode inokulasi langsung. Pengamatan hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya daerah hambatan pertumbuhan atau daerah jernih disekitar koloni kapang. Daerah hambatan pertumbuhan diukur rasio diameter menggunakan jangka sorong.

Hasil uji aktivitas antibakteri kapang endofit batang Kangkung darat dapat dilihat pada Gambar 4.12 dan Tabel 4.6.



**Gambar 4.12** Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit pada Batang Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 setelah Inkubasi pada Suhu Ruang 24 Jam pada Media PCA.

**Tabel 4.6** Hasil Pengukuran Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

| Kode Fungi | Replikasi    | Diameter Kapang (mm) | Diameter DHP (mm) | *Rasio Diameter DHP |
|------------|--------------|----------------------|-------------------|---------------------|
| EKA        | 1            | 11,95                | 0                 | -                   |
|            | 2            | 20,65                | 0                 | -                   |
|            | 3            | 13,05                | 0                 | -                   |
|            | Rata-rata±SD | 15,22±4,74           | 0                 | -                   |
| EKB        | 1            | 11,48                | 0                 | -                   |
|            | 2            | 13,90                | 0                 | -                   |
|            | 3            | 12,48                | 0                 | -                   |
|            | Rata-rata±SD | 12,62±1,22           | 0                 | -                   |
| EKC        | 1            | 11,38                | 17,45             | 1,53                |
|            | 2            | 9,50                 | 14,75             | 1,55                |
|            | 3            | 10,83                | 24,65             | 2,27                |
|            | Rata-rata±SD | 10,57±0,97           | 18,95±5,12        | 1,78±0,42           |

\*Keterangan :

$$\text{Rasio diameter DHP} = \frac{\text{rata-rata diameter DHP}}{\text{rata-rata diameter kapang endofit}}$$

## 4.2 Pembahasan

Batang Kangkung Darat segar yang didapatkan pada bulan Oktober 2021 dari kota Surabaya yang dideterminasi dengan Layanan Jasa dan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Determinasi yang dilakukan batang Kangkung Darat berdasarkan pustaka Backer (1965) dan Bailey (1950). Pengamatan yang dilakukan pada batang Kangkung Darat yaitu pengamatan determinasi, makroskopis dan mikroskopis yang bertujuan untuk mengetahui sampel yang akan digunakan sudah sesuai dengan diinginkan. Berdasarkan dari hasil pengamatan makroskopis yang dilakukan menggunakan sampel batang Kangkung Darat,

sampel batang menunjukkan ciri-ciri yang sama dengan pustaka. Pengamatan mikroskopis yang diperoleh dengan cara membuat irisan melintang dan membujur pada batang Kangkung Darat, kemudian diamati bagian-bagian spesifiknya. Kloralhidrat berfungsi untuk menjernihkan preparat dengan melarutkan klorofil daun. Dengan menghomogenisasi indeks bias, mengganti serta modifikasi komponen sel yang menyebabkan sel terlihat transparan (Trisiswanti dan Sugimin, 2020). Pada pengamatan tersebut batang Kangkung Darat irisan melintang memiliki beberapa jaringan yaitu epidermis, kolenkim, parenkim, endodermis, xilem, dan korteks (Gambar 4.2) sedangkan pada irisan membujur memiliki stomata dengan tipe parasitik (Gambar 4.3) dan memiliki Ca oksalat (Gambar 4.4).

Kriteria batang Kangkung darat yang digunakan untuk proses isolasi kapang endofit adalah masih dalam keadaan segar, panjang tangkai, bertepi rata, tidak ada luka atau berlubang dan tidak terinfeksi oleh hama. Kriteria yang dipilih batang kangkung darat yang tidak terdapat luka dan tidak terinfeksi oleh hama karena jika terdapat luka dan terinfeksi hama maka kemungkinan sampel akan terkontaminasi dari mikroorganisme yang terdapat dilingkungan sekitar. Pada proses isolasi kapang endofit, batang Kangkung darat akan sterilisasi dengan alkohol 70% selama 2 menit, Natrium hipoklorit (NaOCl) 5,3% selama 4 menit kemudian direndam lagi dengan alkohol 70% selama 2 menit dan bilas dengan air steril kemudian dikeringkan dengan atas kertas saring (Widjaja, Soegianto dan Ervina, 2019). Alkohol berfungsi untuk membunuh bakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri, sedangkan NaOCl digunakan untuk membersihkan mikroorganisme, partikel-partikel tanah dan debu yang terdapat pada tanaman (Setiani, Nurwinda dan Astriany, 2018). Setelah itu batang Kangkung darat dipotong sebesar 3×3 cm dan dibelah bagian tengahnya, pada penelitian ini sterilisasi menggunakan sterilisasi satu waktu dimana terdapat 3 cawan petri berisi 1

eksplan dengan waktu inkubasi 8 hari. Dari hasil isolasi yang didapatkan 3 jenis berbeda dimasing-masing kode EKA, EKB, dan EKC (Gambar 4.6). Batang Kangkung darat dilukai dengan cara disayat bagian tengahnya, fungsinya untuk kapang endofit yang terdapat pada jaringan batang Kangkung dapat keluar dengan mudah dari dalam jaringan batang dan tumbuh di media. Kontrol sterilisasi permukaan batang Kangkung darat dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 mL air bilasan terakhir yang sebelumnya digunakan untuk membilas batang Kangkung darat yang telah disterilisasi ke atas media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi 2-14 hari pada suhu ruang. Kontrol sterilisasi berfungsi untuk mengetahui proses sterilisasi yang dilakukan sudah steril atau tidak dan dapat dipastikan bahwa kapang yang nantinya akan tumbuh pada media PDA benar-benar kapang yang berasal dari dalam jaringan batang, bukan dari mikroorganisme yang menempel pada permukaan batang.

Hasil pengamatan kontrol sterilisasi pada batang Kangkung darat tidak ditemukan adanya koloni mikroba, sehingga proses sterilisasi yang telah dilakukan dapat dikatakan sudah efektif dan kapang yang tumbuh pada media merupakan kapang endofit. Koloni kapang endofit yang tumbuh berbeda secara makroskopis diambil dan inokulasikan ke dalam media *Potato Dextrose Yeast broth* 1 mL dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 2-4 hari. Koloni yang telah tumbuh dipindahkan ke dalam media *Potato Dextrose Agar*. Proses ini dilakukan berulang kali hingga didapatkan koloni kapang endofit yang benar-benar murni atau tidak ada kapang endofit berbeda secara makroskopis yang tumbuh pada satu cawan petri. Hasil permurnian isolasi kapang endofit batang Kangkung darat diperoleh 3 jenis kapang endofit murni yang didapatkan pada masing-masing kode EKA, EKB, dan EKC (Gambar 4.7). Dari hasil pemurnian kapang endofit dari batang kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) yang telah

dilakukan hanya didapatkan 3 jenis kapang endofit murni, menurut Kumala (2014), kapang endofit yang dapat diperoleh pada bagian daun lebih banyak, hal ini disebabkan daun memiliki permukaan yang luas serta lapisan kutikula yang tipis sehingga memudahkan kapang endofit untuk berpenetrasi. Kemudian dilakukan karakterisasi pada kapang endofit yang telah murni dengan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia.

Pengamatan makroskopis dilakukan pada kapang endofit murni pada media PDA, meliputi warna koloni, usia koloni, tipe koloni, ukuran koloni, dan sifat permukaan koloni (Tabel 4.2). Hasil pengamatan makroskopis yang didapatkan dari kapang endofit dengan kode EKA dengan usia koloni 8 hari, berukuran 4,5 cm, tipe koloni filamen, sifat permukaan koloni puyer dan berwarna hitam kemudian kapang endofit dengan kode EKB dengan usia koloni 8 hari memiliki ukuran koloni 9 cm dengan tipe koloni filamen, sifat permukaan koloni kapas dan berwarna abu-abu dan kapang endofit dengan kode EKC dengan usia koloni 8 hari memiliki ukuran koloni 1,65 cm dengan tipe koloni filamen, sifat permukaan koloni beludru dan berwarna hijau ke biruan. Hasil pengamatan mikroskopis dibandingkan dengan pustaka Watanabe (2002), pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan laktofenol, karena sifat laktofenol yang isotonis sehingga bentuk kapang tidak akan rusak, tidak mudah menguap dan berguna sebagai antiseptik (Widjaja, Soegianto dan Ervina, 2019). Pada kapang kode EKA memiliki Spora, Vesikel, Fialid, Konidiafor dan Konidia yang diduga termasuk dalam genus *Aspergillus*, pada kapang kode EKB memiliki Konidia dan Konidiafor yang diduga termasuk dalam genus *Colletotrichum*. Sedangkan pada kapang kode EKC memiliki Konidia, Fialid dan Konidiafor yang diduga termasuk dalam genus *Penicillium*.

Uji biokimia yang dilakukan adalah uji hidrolisa amilum, uji hidrolisa kasein, dan uji hidrolisa lemak (Tabel 4.4). Uji hidrolisa amilum

menggunakan media *Starch Agar* (SA). Pengamatan hasil uji hidrolisa amilum dengan mengamati perubahan warna yang terjadi pada sekitar koloni, sehingga menunjukkan bahwa kapang tersebut terdapat enzim amilase sehingga *Starch Agar* yang mengandung amilum akan dipecah menjadi maltosa oleh enzim amilase. Hidrolisa dikatakan negatif jika terbentuk warna biru tua di sekitar koloni dan hidrolisa dikatakan positif jika terbentuk warna merah kecoklatan (hidrolisa parsial) atau jernih (hidrolisa total) di sekitar koloni. Hidrolisa parsial terjadi bila pada saat hidrolisis menghasilkan dekstrin dan akan menghasilkan warna merah kecoklatan sedangkan hidrolisa total ditandai dengan terbentuknya daerah jernih pada sekitar koloni dengan amilum yang terhidrolisis menjadi maltosa sehingga akan menghasilkan warna jernih (Harley and Prescott, 2002). Hasil pengamatan uji hidrolisa amilum pada kapang endofit kode EKA, EKB, dan EKC mendapatkan hasil positif (+) (Gambar 4.8) dengan terbentuknya daerah jernih pada sekitar koloni setelah dituangi larutan iodium, menunjukkan bahwa fungi endofit kode EKA, EKB dan EKC memiliki enzim amilase. Uji hidrolisa kasein menggunakan media *Milk Agar Base* (MAB) yang kemudian ditambahkan susu skim steril sebanyak 1 ml. Pengamatan hasil uji hidrolisa kasein dengan terbentuknya daerah transparan disekitar koloni maka dikatakan positif. Hasil pengamatan uji hidrolisa kasein pada kapang endofit kode EKA dan EKC mendapatkan hasil positif (+) dengan terbentuknya daerah transparan disekitar koloni menunjukkan kapang endofit kode EKA dan EKC memiliki enzim kasease yang dapat memecah kasein menjadi pepton yang mudah larut dengan air, sedangkan kapang endofit kode EKB mendapatkan hasil negatif (-) sehingga dapat dikatakan kapang endofit EKB tidak memiliki enzim kasease karena tidak ada terbentuknya daerah transparan sekitar koloni. Daerah transparan pada sekitar koloni terjadi ketika kasein yang dapat dipecahkan menjadi pepton oleh enzim kasease yang dihasilkan dari kapang,

kemudian akan terbentuk daerah transparan pada sekitar koloni karena pepton merupakan fraksi larut air (Harley and Prescott, 2002). Uji hidrolisa lemak menggunakan media *Neutral Red Agar* (NRA) yang kemudian ditambahkan *oleum cocos* steril sebanyak 0,5 ml. Pengamatan hasil uji hidrolisa lemak dengan terbentuknya warna merah di sekitar koloni dan hidrolisa dikatakan negatif jika terbentuk warna kuning di sekitar koloni. Hasil pengamatan uji hidrolisa lemak pada kapang endofit kode EKA, EKB, dan EKC mendapatkan hasil positif (+) dengan terbentuknya warna merah pada sekitar koloni, menunjukkan bahwa kapang endofit kode EKA, EKB dan EKC memiliki enzim lipase. Warna merah yang terbentuk pada sekitar koloni terjadi karena adanya asam lemak yang dihasilkan pada proses hidrolisa lemak (Harley and Prescott, 2002).

Proses uji aktivitas antibakteri kapang endofit pada batang Kangkung darat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dilakukan dengan mempersiapkan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Pemurnian bakteri uji dilakukan untuk memastikan kemurnian bakteri uji dengan cara makroskopis dan mikroskopis. Memastikan kemurnian bakteri uji dengan makroskopis dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri uji pada media selektif yaitu *Manitol Salt Agar* (MSA). Bakteri uji akan dioptimasi selama 3 hari berturut-turut dan diinkubasi selama 24 jam. Koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ditandai dengan berubahnya media MSA di sekitar koloni, dari warna merah menjadi warna kuning karena fermentasi mannitol yang dilakukan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 menghasilkan asam (Gambar 4.11). Memastikan kemurnian bakteri uji dengan cara pengamatan makroskopis dan mikroskopis, hasil pengamatan makroskopis yang didapatkan bentuk koloni titik, ukuran koloni <1 mm, kenaikan permukaan sedikit cembung, tekstur koloni opaque, halus dan mengkilat, dan tepi koloni utuh (Gambar 4.11). Hasil pengamatan mikroskopis pada

perbesaran 10x100, hasil yang ditemukan pada pengamatan sel *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 adalah bentuk sel bulat, susunan sel bergerombol dan berwarna ungu (Gambar 4.11). Bakteri uji yang pertumbuhannya telah dioptimasi, diinokulasikan dalam larutan NaCl 0,9% dan disetarakan dengan larutan  $\frac{1}{2}$  Mc Farland I ( $1,5 \times 10^8$  cfu/ml). Larutan NaCl 0,9% merupakan larutan isotonis yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Larutan Mc Farland mengandung larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% yang merupakan larutan penyetaraan konsentrasi mikroba. 0,1 mL bakteri uji yang telah setara dengan  $\frac{1}{2}$  Mc Farland dicampurkan dengan 10 mL media PCA dan dituang dalam cawan petri serta dilakukan pra inkubasi pada suhu 37°C selama 1,5 jam. Dilakukan pra inkubasi supaya pada waktu pengujian pertumbuhan bakteri uji berada pada fase eksponensial. Menurut Saropah, Jannah dan Maunatin (2012), fase eksponensial dapat diketahui dengan tanda meningkatnya jumlah sel bakteri. Selanjutnya inokulasikan 3 kapang endofit murni batang Kangkung darat. 1 Cawan petri berisikan 3 jenis kapang endofit. Kemudian setelah kapang endofit murni diinokulasikan dalam media PCA diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam, setelah itu dilakukan pengamatan dan pengukuran daerah hambatan pertumbuhan (DHP) yang terbentuk sekitar koloni kapang.

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri kapang endofit pada batang Kangkung darat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pada kapang endofit kode EKC menunjukkan terdapat aktivitas antibakteri dengan rata-rata rasio hambatan dari kapang endofit kode EKC sebesar  $1,78 \pm 0,42$ , daerah hambatan pertumbuhan terjadi karena terdapat senyawa antibakteri pada kapang endofit yang ditanam dalam media yang sudah diinokulasikan oleh bakteri uji. Sedangkan pada kapang endofit batang Kangkung darat kode EKA dan EKB tidak memiliki rasio hambatan yang terjadi. Rasio yang digunakan pada perhitungan diameter DHP karena

diameter kapang endofit yang ditanam pada pengujian aktivitas antibakteri memiliki ukuran yang berbeda-beda.