

Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Kulit Batang Rimbang (*Solanum torvum* Swartz) terhadap Beberapa Bakteri

Melzi Octaviani*, Salsabila Putri, Sri Ildya Rasihe, Kolistia Sisilawati, Nofriyanti, Rahmayati Rusnedy

Artikel Penelitian

Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu
Farmasi Riau, Pekanbaru,
28928, Indonesia

Korespondensi:

Melzi Octaviani
melzioctaviani@stifar-riau.ac.id



Abstract: Endophytic fungi are known as a promising alternative source of antibacterials due to their ability to synthesize secondary metabolites like their host plants. Although the presence of endophytic fungi associated with *Solanum torvum* has been reported in previous studies, no studies have focused on fungi isolated from the bark of *Solanum torvum* and the correlation between the phytochemical content of its fractions and antibacterial activity. The aim of this study was to isolate endophytic fungi from the bark of *Solanum torvum* and test the antibacterial activity and phytochemical profiles of the fractions from the isolates against pathogenic bacteria. Endophytic fungi were isolated using direct cultivation techniques after surface sterilization. The antibacterial activity test was evaluated using the disc diffusion method against *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Escherichia coli* ATCC 11775, and *Salmonella typhi* ATCC 14028 bacteria. Five endophytic fungal isolates were obtained and identified, namely FEST-K1 (*Artrographis*), FEST-K2 (*Acremonium* sp.), FEST-K3 (*Paecilomyces* sp.), FEST-K4 (*Lichtheimia*), and FEST-K5 (*Alternaria* sp.). The supernatant was then extracted and fractionated using ethyl acetate, chloroform, and n-butanol. Phytochemical analysis showed that the fungal fraction contained alkaloids, terpenoids, and saponins. FEST-K1 showed the strongest inhibitory activity against *S. aureus* and *B. cereus*, with inhibition zone diameters of 15.09 mm and 13.69 mm, respectively. In contrast, the highest activity against *E. coli* and *S. typhi* was observed in FEST-K4 (13.78 mm) and FEST-K5 (15.45 mm). One-way ANOVA statistical analysis showed that the antibacterial activity of the fungal extracts was significantly different from the positive control ($p < 0.05$). These results indicate that endophytic fungi derived from the bark of *S. torvum* are a potential source of antibacterial compounds.

Keywords: *Solanum torvum* Swartz, antibacterial, endophytic fungi, isolation

Abstrak: Jamur endofit dikenal sebagai sumber alternatif antibakteri yang menjanjikan karena kemampuannya untuk mensintesis metabolit sekunder seperti tanaman inangnya. Meskipun keberadaan jamur endofit yang berasosiasi dengan *Solanum torvum* telah dilaporkan dalam penelitian sebelumnya, tetapi belum ada penelitian yang berfokus pada jamur yang diisolasi dari kulit batang, serta korelasi antara kandungan fitokimia fraksinya dan aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi jamur endofit dari kulit batang *Solanum torvum* dan mengujikan aktivitas antibakteri dan profil fitokimia fraksi dari isolat tersebut terhadap bakteri patogen. Jamur endofit diisolasi menggunakan teknik penanaman langsung setelah sterilisasi permukaan. Uji aktivitas antibakteri dievaluasi menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Escherichia coli* ATCC 11775, dan *Salmonella typhi* ATCC 14028. Lima isolat jamur endofit diperoleh dan diidentifikasi, yaitu FEST-K1 (*Artrographis*), FEST-K2 (*Acremonium* sp.), FEST-K3 (*Paecilomyces* sp.), FEST-K4 (*Lichtheimia*), dan FEST-K5 (*Alternaria* sp.). Supernatan kemudian diekstraksi dan difraksinasi menggunakan etil asetat, kloroform, dan n-butanol. Analisis fitokimia menunjukkan bahwa fraksi jamur mengandung alkaloid,

terpenoid, dan saponin. FEST-K1 menunjukkan aktivitas penghambatan terkuat terhadap *S. aureus* dan *B. cereus*, dengan diameter zona inhibisi masing-masing 15,09 mm dan 13,69 mm. Sebaliknya, aktivitas tertinggi terhadap *E. coli* dan *S. typhi* diamati pada FEST-K4 13,78 mm dan FEST-K5 15,45 mm. Analisis statistik ANOVA satu arah menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak jamur berbeda secara signifikan dari kontrol positif ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa jamur endofit yang berasal dari kulit batang *S. torvum* merupakan sumber potensi senyawa antibakteri.

Kata kunci: *Solanum torvum* Swartz, antibakteri, jamur endofit, isolasi

Pendahuluan

Rimbang (*Solanum torvum* Swartz) merupakan tanaman yang secara luas digunakan oleh masyarakat, baik sebagai bahan pangan maupun obat tradisional. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman ini berpotensi sebagai agen antibakteri dan telah dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit infeksi. Aktivitas tersebut didukung oleh keberadaan berbagai senyawa kimia, seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin, yang terdapat pada bagian-bagian tanaman rimbang (1).

Penelitian yang dilakukan Rasyid (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rimbang dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dengan zona hambat terbesar diperoleh pada konsentrasi 25%, masing-masing sebesar 20 mm dan 17 mm (2). Christian et al (2022) melaporkan bahwa bakteri endofit dapat menjadi sumber senyawa bioaktif dengan sifat antimikroba. Bakteri endofit yang diisolasi dari *Solanum torvum* pada berbagai organ meliputi bunga, daun, batang, kulit batang, buah dan akar menunjukkan aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *Shigella flexneri*. Konsentrasi hambat minimum yang diperoleh dari ekstrak bakteri endofit pada bagian daun, bunga, buah, batang, kulit batang, dan akar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 200 g/mL. Pada pengujian bakteri endofit terhadap bakteri *Shigella flexneri* konsentrasi hambat minimum yang diperoleh pada akar adalah 200 g/mL dan pada buah diperoleh 100 g/mL dimana penghambatan pertumbuhan bakteri terlihat dengan tidak adanya kekeruhan (3). Hasil penelitian tersebut menegaskan potensi

S. torvum sebagai sumber senyawa antibakteri alami.

Eksplorasi mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman yang disebut dengan mikroba endofit masih relatif terbatas, khususnya pada bagian kulit batang. Mikroorganisme endofit, terutama jamur, diketahui dapat hidup dan berkembang secara simbiotik di dalam jaringan tanaman dan dapat menghasilkan metabolit sekunder yang serupa maupun berbeda dari tanaman inangnya. Kesamaan metabolit diduga berkaitan dengan proses koevolusi dan pertukaran sinyal biokimia antara inang dan endofit, sedangkan perbedaan metabolit dapat muncul akibat jalur biosintesis spesifik yang dimiliki jamur endofit sebagai respons terhadap lingkungan mikro dalam jaringan tanaman. Metabolit sekunder isolat jamur endofit diketahui mempunyai berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, antivirus, antioksidan, inhibitor α -amilase dan antikanker (4-7).

Kulit batang dipilih sebagai sumber isolasi jamur endofit karena jaringan ini merupakan antarmuka penting antara lingkungan eksternal dan sistem internal tanaman. Kulit batang berperan dalam perlindungan terhadap stres biotik, seperti serangan mikroorganisme patogen, sehingga secara ekologis diperkirakan memiliki komunitas endofit yang unik dan kaya akan jamur dengan kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Selain itu, beberapa studi menunjukkan bahwa perbedaan organ tanaman dapat menghasilkan komposisi komunitas endofit yang berbeda secara signifikan, baik dari segi keanekaragaman maupun potensi bioaktivitasnya. Oleh karena itu, eksplorasi jamur endofit dari kulit batang *S. torvum* berpotensi

mengungkap isolat dengan karakter metabolit yang belum banyak dilaporkan.

Penelitian sebelumnya pada *S. torvum* lebih banyak difokuskan pada bakteri endofit atau pada ekstrak langsung dari bagian tanaman, sementara laporan mengenai jamur endofit, khususnya dari kulit batang, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan dalam mengeksplorasi jamur endofit dari kulit batang *S. torvum* serta mengkaji potensi antibakterinya. Isolat jamur yang diperoleh, seperti *Arthrographis*, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Lichtheimia*, dan *Alternaria*, memberikan kontribusi ilmiah baik sebagai laporan awal keberadaannya pada kulit batang *S. torvum* maupun sebagai data pembanding baru terkait aktivitas antibakteri dan potensi metabolit sekundernya (8-11).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi jamur endofit yang berasal dari kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz) serta mengevaluasi aktivitas antibakteri isolat yang diperoleh terhadap bakteri patogen manusia, yaitu *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. typhi*. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan sumber antibakteri baru berbasis jamur endofit serta memperkaya informasi mengenai keanekaragaman dan potensi bioaktif endofit pada tanaman rimbang.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kloroform, asam sulfat 2 N, kloroform amoniak, logam magnesium, asam klorida pekat, pereaksi Mayer, besi (III) klorida (FeCl_3) 1%, norit, pereaksi Lieberman-Bouchard, asam sulfat pekat, AlCl_3 , asam asetat anhidrat, aquades, alkohol 70%, NaOCl 5,3%, Medium Potato Dextrose Agar, Yeast Extract Powder, Medium Nutrient Agar, Potato Dextrose Broth, CaCO_3 , kloramfenikol 0,005% (25 mg/500mL), antibiotik kloramfenikol 30 μg /disk (Oxoid, Inggris), Lactophenol Cotton Blue dan NaCl fisiologis 0,9%. Sampel pada penelitian ini adalah tanaman rimbang (*Solanum torvum* Swartz) yang diambil di Simpang Baru, Kecamatan Binawidya, Kota Pekanbaru, Provinsi

Riau, yang diambil bagian kulit batangnya untuk mendapatkan isolat jamur endofit sebagai sampel uji. Bakteri uji dalam penelitian ini yaitu *B. cereus* ATCC 11778, *S. aureus* ATCC 12600, *E. coli* ATCC 11775 dan *S. typhi* ATCC 14028 yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Lingkungan Pekanbaru, Provinsi Riau.

Metode

Identifikasi Sampel

Identifikasi tanaman rimbang (*Solanum torvum* Swartz) dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau.

Isolasi dan Pemurnian Isolat Jamur Endofit

Kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz) dicuci dengan menggunakan air mengalir, kemudian potong sampel berukuran 1 x 1 cm. Sampel selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan dengan tahapan yaitu merendam sampel ke dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit. Setelah itu rendam sampel ke dalam NaOCl 5,3% selama 5 menit, rendam kembali dalam alkohol 70% selama 30 detik, lalu bilas dengan menggunakan aquadest steril sebanyak tiga kali. Bilasan terakhir aquadest steril diinokulasikan pada medium *Potato Dextrose Agar with Chloramphenicol* (PDAC) dan diinkubasi pada suhu 27–29°C selama 5–7 hari. Tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme pada media kontrol menunjukkan bahwa jamur yang tumbuh berasal dari jaringan internal (endofit).

Sampel yang telah steril tersebut dikeringkan dengan meletakkan di atas kertas saring, lalu dipotong secara membujur menggunakan silet steril. Kemudian letakkan potongan sampel di atas medium PDAC. Inokulasi sampel dilakukan secara aseptis, setelah itu diinkubasi pada suhu 27°C–29°C selama 5–7 hari. Koloni fungi yang tumbuh pada media, selanjutnya dilakukan pemisahan atau dimurnikan dalam cawan Petri yang sudah diisi dengan media PDA baru, selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 27°C selama 5–7 hari (12). Koloni jamur yang muncul di sekitar jaringan tanaman dipisahkan dan pada media PDAC baru dimurnikan kembali hingga diperoleh biakan murni yang ditandai dengan keseragaman morfologi koloni (13).

Identifikasi Jamur Endofit

Identifikasi isolat jamur endofit diamati ciri dan karakteristik morfologi yaitu secara makroskopis dan mikroskopis dari koloni jamur yang tumbuh. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan melihat secara kasat mata koloni jamur endofit yang tumbuh itu sama bentuk dan warnanya. Kemudian dilakukan pengukuran diameter koloni yang tumbuh dengan menggunakan jangka sorong. Karakter yang diamati secara makroskopis yaitu warna permukaan koloni, warna sebalik koloni, tekstur dan lingkaran konsentris. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan preparat jamur yang diwarnai dengan lactophenol cotton blue untuk memperjelas struktur hifa dan alat reproduksi. Pengamatan mikroskopis yaitu ada tidaknya septa pada hifa, bentuk hifa, dan pigmentasi hifa diamati dengan menggunakan mikroskop (14).

Fermentasi Isolat Jamur Endofit

Biakan murni jamur endofit diinokulasikan ke dalam 50 mL medium cair PDY dalam erlenmeyer steril. Fermentasi dilakukan menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 130 rpm, suhu ruang, selama 14 hari. Setelah fermentasi, kultur disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Tindakan ini dilakukan agar biomassa jamur terpisah dari supernatan. Supernatan hasil fermentasi diekstraksi secara bertahap menggunakan metode partisi cair-cair. Supernatan diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat pada rasio 1:1 (v/v), kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh residu kental dan ditimbang untuk menentukan rendemen. Fase air selanjutnya diekstraksi dengan kloroform (1:1 v/v), diikuti dengan ekstraksi menggunakan butanol (1:1 v/v). Masing-masing fraksi dievaporasi hingga diperoleh residu.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap supernatan fermentasi serta residu fraksi etil asetat, kloroform, dan butanol. Sampel supernatan diuji langsung tanpa pemanasan, sedangkan fraksi residu dilarutkan kembali dalam pelarut yang sesuai pada konsentrasi

tertentu sebelum pengujian. Uji fitokimia untuk identifikasi golongan flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, steroid, dan terpenoid menggunakan metode kualitatif standar dengan pereaksi spesifik. Prosedur pengujian disesuaikan dengan karakteristik sampel mikroba, khususnya untuk supernatan yang tidak melalui proses destruksi jaringan seperti pada bahan tanaman (15).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Penanaman media kultur dengan mengambil sebanyak 0,3 mL suspensi bakteri uji dengan pengukuran transmitan 25% dengan panjang gelombang 580 nm, kemudian ditambahkan 15 mL media NA dalam cawan Petri, dihomogenkan, setelah itu dibiarkan memadat. Kertas cakram steril diteteskan sebanyak 10 μ L untuk masing-masing kertas cakram supernatan, fraksi etil asetat, fraksi kloroform, dan fraksi butanol isolat jamur endofit. Kertas cakram yang berisi larutan uji didiamkan selama 15 menit, agar larutan menguap sebelum diletakkan pada media uji. Kemudian letakkan kertas cakram secara aseptis pada permukaan media NA yang berisi bakteri uji. Kertas cakram antibiotik kloramfenikol 30 μ g/disk digunakan sebagai kontrol positif dan kertas cakram kosong yang ditetesi 10 μ L aquadest sebagai kontrol negatif digunakan. Pengujian dilakukan terhadap 4 jenis bakteri uji yaitu adalah *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhi*, setiap pengujian dilakukan tiga kali pengulangan, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diukur diameter daerah hambat yang dapat diamati dari daerah bening disekitar cakram dengan jangka sorong. Penelitian ini difokuskan pada uji aktivitas awal, sehingga penentuan MIC dan MBC tidak dilakukan.

Analisis Data

Data yang didapatkan merupakan data deskriptif dan kuantitatif yang berisi hasil identifikasi jamur endofit dari kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz). Analisis secara kualitatif meliputi karakteristik mikroskopik dan makroskopik. Pengukuran diameter hambatan dari aktivitas antibakteri menggunakan jangka sorong merupakan data kuantitatif. Analisis data menggunakan One Way Analysis Of Variance (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% untuk

mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri antar fraksi.

Hasil dan Diskusi

Hasil identifikasi sampel tanaman yang dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau menunjukkan bahwa sampel adalah *Solanum torvum* Swartz dengan nomor surat 077/UN19.5.1.1.3-4/EP/2024. Hasil

uji fitokimia sampel segar kulit batang rimbang mengandung metabolit sekunder flavonoid, terpenoid, fenolik, alkaloid, dan saponin Tabel 1. Keberadaan berbagai metabolit sekunder ini memperkuat laporan sebelumnya bahwa *S. torvum* merupakan tanaman dengan potensi bioaktivitas tinggi dan berpotensi menjadi inang bagi jamur endofit yang mampu menghasilkan metabolit bioaktif serupa atau turunan strukturnya.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Sampel Uji

Kode isolat	Sampel uji	Metabolit sekunder
Sampel Segar	Kulit batang	Alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin
	Supernatan	Alkaloid, terpenoid dan saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid dan saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
FEST-K1	Supernatan	Alkaloid, terpenoid dan saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid dan saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
	Supernatan	Alkaloid, terpenoid dan saponin
FEST-K2	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid dan saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
	Supernatan	Alkaloid dan saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
FEST-K3	Fraksi kloroform	Alkaloid dan saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
	Supernatan	Alkaloid, Saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid, Terpenoid, dan Saponin
FEST-K4	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
	Supernatan	Alkaloid, Terpenoid, dan Saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid, Saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
FEST-K5	Supernatan	Alkaloid, Terpenoid, dan Saponin
	Fraksi Etil Asetat	-
	Fraksi kloroform	Alkaloid, Saponin
	Fraksi <i>n</i> -butanol	Alkaloid
	Supernatan	Alkaloid, Terpenoid, dan Saponin

Sebelum jamur endofit diisolasi dari inangnya, perlu dilakukan sterilisasi permukaan. Tujuan dari sterilisasi permukaan adalah menghilangkan mikroorganisme yang ada pada permukaan tanaman, sehingga koloni yang didapatkan berasal dari dalam jaringan tanaman (16). Sterilisasi permukaan dengan cara direndam dengan etanol 70% dan dilanjutkan dengan perendaman dengan larutan NaOCl 5,3%. Kombinasi dua pelarut tersebut adalah untuk

mengoptimalkan proses sterilisasi pada permukaan organ tanaman, jika dibandingkan hanya menggunakan etanol atau NaOCl saja (17).

Teknik yang digunakan untuk mendapatkan isolat jamur endofit adalah teknik tanam langsung. Dengan teknik tanam langsung, jamur endofit akan tumbuh pada permukaan media sehingga memudahkan pengamatan dan proses pemisahan masing-masing isolat. Media yang digunakan adalah media PDAC. Media PDA

memiliki komposisi nutrisi yang sederhana yang membuat jamur mudah menyerap nutrisi. Penambahan kloramfenikol pada media isolasi bertujuan untuk menghindari pertumbuhan bakteri endofit atau bakteri kontaminan yang dapat mengganggu pertumbuhan jamur endofit (16). Sampel kemudian dipotong membujur dan diletakkan pada permukaan agar, sehingga bagian dalam dari potongan sampel menghadap atau bersentuhan langsung pada permukaan agar. Pemisahan dilakukan berdasarkan perbedaan morfologi masing-masing jamur (14).

Jamur endofit yang tumbuh dilakukan pemurnian hingga didapat isolat murni dengan diberi kode FEST-K (Fungi Endofit *Solanum torvum* Swartz Kulit Batang). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh lima isolat jamur endofit dari kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz) yaitu FEST-K1, FEST-K2, FEST-K3, FEST-K4 dan FEST-K5. Setelah dilakukan pengamatan mikroskopik, didapatkan bahwa ketiga isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi merupakan jamur *Arthrographis* (FEST-K1), jamur *Acremonium sp.* (FEAC-K2),

Paecilomyces sp. (FEAC-K3), jamur *Lichtheimia* (FEST-K4) dan jamur *Alternaria sp.* (FEST-K5) Gambar 1.

Identifikasi isolat jamur endofit dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis serta mikroskopis. Identifikasi makroskopis meliputi warna koloni, tekstur permukaan koloni, warna sebalik koloni serta garis radial. Sedangkan secara mikroskopis, pengamatan dilakukan terhadap warna hifa, bentuk hifa dan jenis hifa yang terbentuk (18). Data hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dari isolat jamur endofit kulit batang rimbang terlihat pada Tabel 2.

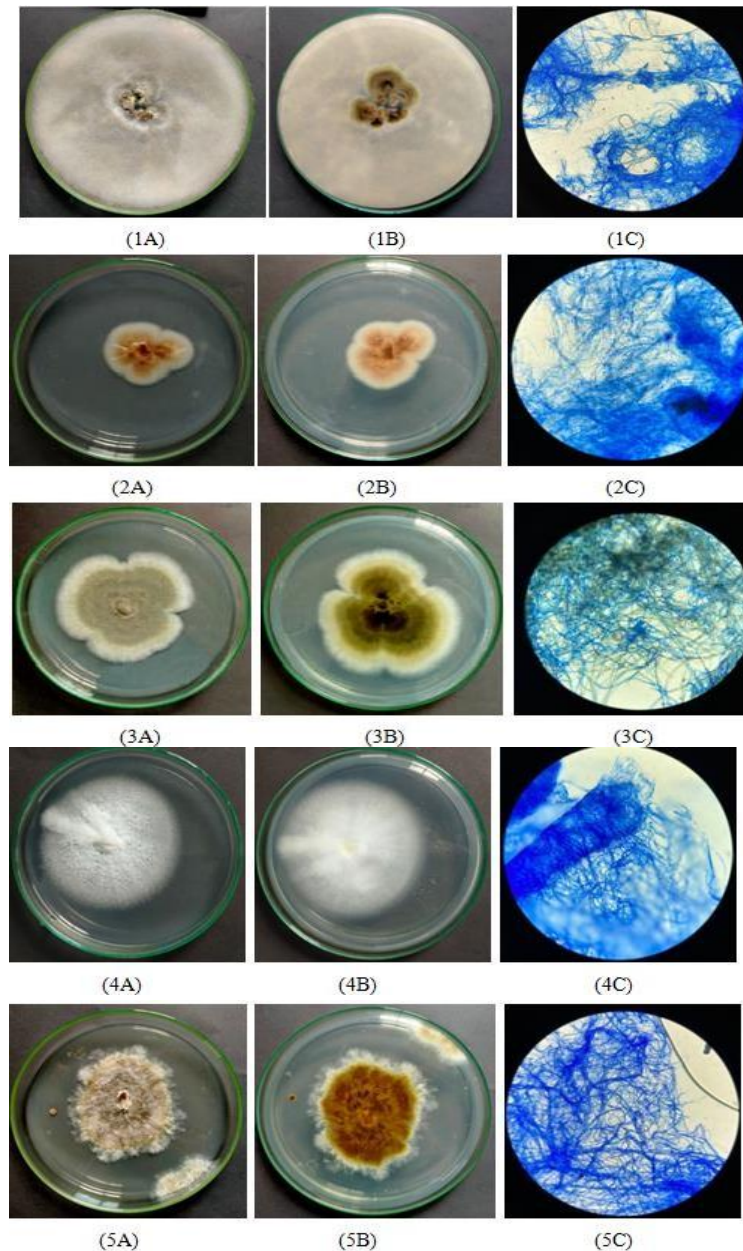
Jamur endofit yang tumbuh dilakukan pemurnian hingga didapat isolat murni dengan diberi kode FEST-K (Fungi Endofit *Solanum torvum* Swartz Kulit Batang). Tujuan pemurnian adalah memisahkan koloni endofit yang memiliki morfologi berbeda untuk mendapatkan isolat murni. Media yang digunakan untuk pemurnian jamur endofit yaitu media PDAC baru. Tahapan selanjutnya yaitu inkubasi selama tujuh hari pada suhu 27°C

Tabel 2. Hasil Identifikasi Isolat Jamur Endofit Kulit Batang Rimbang

Kode Isolat	Warna Koloni	Warna Bagian Bawah Cawan Petri	Diameter	Tekstur	Lingkar Konsentris	Garis Radial	Hifa	Warna	Genus
FEST-K1	Putih Keabuan	Coklat, hijau, putih	11 cm	Kapas	Ada	Ada	Rhizoid	Berpigmentasi Hialin	<i>Arthrographis sp.</i>
FEST-K2	Putih kecoklatan	Coklat, putih	4,5 cm	Halus	Ada	Ada	Rhizoid	Berpigmentasi Hialin	<i>Acremonium sp.</i>
FEST-K3	Putih Keabuan	Coklat, hijau, putih	7,6 cm	Halus	Ada	Ada	Rhizoid	Berpigmentasi Hialin	<i>Paecilomyces sp.</i>
FEST-K4	Putih	Putih	6,6 cm	Kapas	Ada	Ada	Rhizoid	Berpigmentasi Hialin	<i>Lichtheimia</i>
FEST-K5	Putih kecoklatan	Putih, coklat, kuning	7,5 cm	Halus	Ada	Ada	Rhizoid	Berpigmentasi Hialin	<i>Alternaria sp.</i>

Isolat jamur endofit yang didapat, dilakukan pengamatan karakteristik secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi makroskopis meliputi warna permukaan koloni, warna sebalik koloni, bentuk koloni, tekstur permukaan koloni (hifa aerial) dan garis radial. Sedangkan mikroskopis dilihat warna hifa, jenis hifa dan bentuk dari hifa. Karakterisasi dilakukan setelah diperoleh isolat yang murni. Sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melihat warna hifa, jenis hifa dan bentuk dari hifa

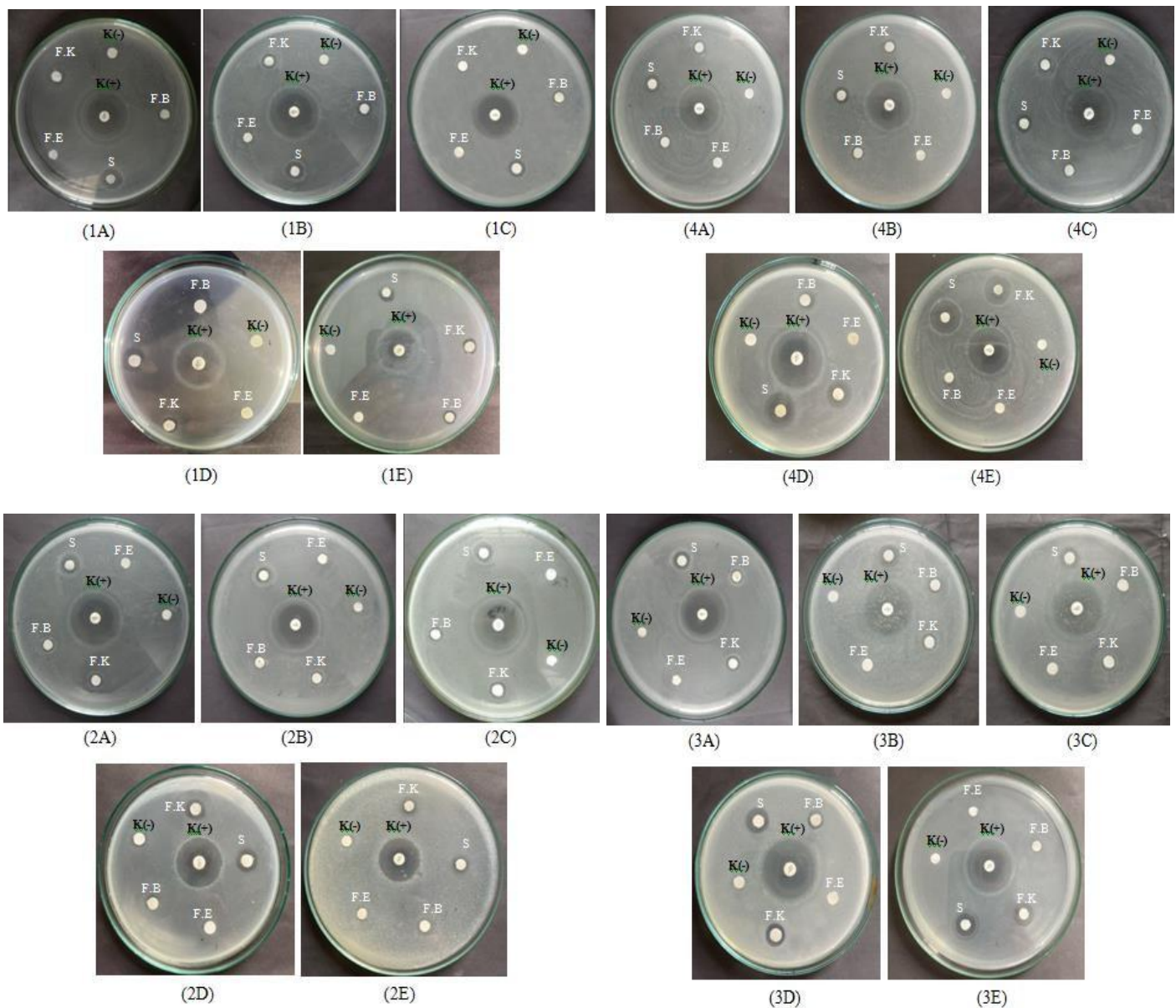
(19). Hasil isolasi dari kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz), diperoleh lima isolat jamur endofit, yaitu FEST-K1, FEST-K2, FEST-K3, FEST-K4 dan FEST-K5. Hasil pengamatan mikroskopik, didapatkan bahwa kelima isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi merupakan jamur *Arthrographis* (FEST-K1), jamur *Acremonium sp.* (FEAC-K2), *Paecilomyces sp.* (FEAC-K3), jamur *Lichtheimia* (FEST-K4) dan jamur *Alternaria sp.* (FEST-K5) Gambar 1; Tabel 2.



Gambar 1. Makroskopis dan Mikroskopis isolat FEST- K1, FEST-K2, FEST-K3, FEST-K4 dan FEST-K5
Keterangan :

1. FEST-K1 (*Artrographis*) tampak depan (A), tampak belakang (B) dan pengamatan mikroskopis perbesaran 40x (C)
2. FEST-K2 (*Acremonium* sp) tampak depan (A), tampak belakang (B) dan pengamatan mikroskopis perbesaran 40x (C)
3. FEST-K3 (*Paecilomyces* sp) tampak depan (A), tampak belakang (B) dan pengamatan mikroskopis perbesaran 40x (C)
4. FEST-K4 (*Lichteimia*) tampak depan (A), tampak belakang (B) dan pengamatan mikroskopis perbesaran 40x (C)
5. FEST-K5 (*Alternaria* sp) tampak depan (A), tampak belakang (B) dan pengamatan mikroskopis perbesaran 40x (C)

d



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Kulit Batang Rimbang Terhadap Bakteri Uji
Keterangan :

1. Bakteri *Staphylococcus aureus* (A. FEST-K1), (B. FEST-K2), (C. FEST-K3), (D. FEST-K4),(E. FEST-K5)
2. Bakteri *Bacillus cereus* (A. FEST-K1), (B. FEST-K2), (C. FEST-K3), (D. FEST-K4),(E. FEST-K5)
3. Bakteri *Escherichia coli* (A. FEST-K1), (B. FEST-K2), (C. FEST-K3), (D. FEST-K4),(E. FEST-K5)
4. Bakteri *Salmonella typhi* (A. FEST-K1), (B. FEST-K2), (C. FEST-K3), (D. FEST-K4),(E. FEST-K5)

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Hambatan Aktivitas Antibakteri

Kode Isolat	Sampel Uji	Rata-rata Diameter Hambatan (mm) $\pm$ SD Terhadap Beberapa Bakteri Uji			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>
FEST-K1	K(-)	-	-	-	-
	K(+)	26,83 $\pm$ 0,31 ^a	27,45 $\pm$ 0,05 ^a	26,39 $\pm$ 0,52 ^a	27,51 $\pm$ 0,07 ^a
	Supernatan	15,09 $\pm$ 0,41 ^b	13,69 $\pm$ 0,10 ^b	13,24 $\pm$ 0,16 ^b	10,99 $\pm$ 0,07 ^b
	Fraksi etil asetat	-	-	-	-
	Fraksi kloroform	10,94 $\pm$ 0,16 ^c	9,50 $\pm$ 0,03 ^c	10,75 $\pm$ 0,06 ^c	8,51 $\pm$ 0,03 ^c
	Fraksi <i>n</i> -butanol	8,11 $\pm$ 0,20 ^d	8,09 $\pm$ 0,07 ^d	9,17 $\pm$ 0,04 ^d	7,30 $\pm$ 0,03 ^d
FEST-K2	K(-)	-	-	-	-
	K(+)	26,88 $\pm$ 0,25 ^a	27,06 $\pm$ 0,19 ^a	27,45 $\pm$ 0,06 ^a	26,94 $\pm$ 0,13 ^a
	Supernatan	14,92 $\pm$ 0,18 ^b	12,58 $\pm$ 0,11 ^b	14,04 $\pm$ 0,04 ^b	12,12 $\pm$ 0,38 ^b
	Fraksi etil asetat	-	-	-	-
	Fraksi kloroform	10,03 $\pm$ 0,02 ^c	10,04 $\pm$ 0,04 ^c	9,22 $\pm$ 0,03 ^c	10,16 $\pm$ 0,14 ^c
	Fraksi <i>n</i> -butanol	9,24 $\pm$ 0,04 ^d	7,30 $\pm$ 0,26 ^d	7,57 $\pm$ 0,31 ^d	8,73 $\pm$ 0,21 ^d
FEST-K3	K(-)	-	-	-	-
	K(+)	27,06 $\pm$ 0,10 ^a	27,83 $\pm$ 0,03 ^a	25,75 $\pm$ 0,23 ^a	26,91 $\pm$ 0,17 ^a
	Supernatan	14,05 $\pm$ 0,17 ^b	13,03 $\pm$ 0,08 ^b	12,62 $\pm$ 0,03 ^b	13,23 $\pm$ 0,44 ^b
	Fraksi etil asetat	-	-	-	-
	Fraksi kloroform	8,13 $\pm$ 0,22 ^c	10,15 $\pm$ 0,03 ^c	8,07 $\pm$ 0,05 ^c	8,21 $\pm$ 0,02 ^c
	Fraksi <i>n</i> -butanol	7,24 $\pm$ 0,25 ^d	7,51 $\pm$ 0,02 ^d	7,08 $\pm$ 0,03 ^d	7,50 $\pm$ 0,02 ^d
FEST-K4	K (+)	23,79 $\pm$ 0,66 ^a	24,29 $\pm$ 0,17 ^a	28,42 $\pm$ 0,28 ^a	22,33 $\pm$ 0,73 ^a
	K (-)	-	-	-	-
	Supernatan	14,58 $\pm$ 0,61 ^b	13,31 $\pm$ 0,72 ^b	13,78 $\pm$ 0,29 ^b	13,82 $\pm$ 0,94 ^b
	Fraksi Etil	-	-	-	-
	Fraksi Kloroform	10,01 $\pm$ 0,43 ^c	12,09 $\pm$ 0,60 ^c	13,17 $\pm$ 0,17 ^b	13,09 $\pm$ 0,86 ^c
	Fraksi <i>n</i> -butanol	-	-	10,02 $\pm$ 0,83 ^c	7,80 $\pm$ 0,45 ^d
FEST-K5	K (+)	24,29 $\pm$ 0,69 ^a	23,61 $\pm$ 0,46 ^a	28,95 $\pm$ 0,31 ^a	25,92 $\pm$ 0,54 ^a
	K (-)	-	-	-	-
	Supernatan	13,77 $\pm$ 0,34 ^b	12,15 $\pm$ 0,92 ^b	11,85 $\pm$ 0,76 ^b	15,45 $\pm$ 0,70 ^b
	Fraksi Etil	-	-	-	-
	Fraksi Kloroform	12,82 $\pm$ 0,25 ^c	11,79 $\pm$ 0,84 ^b	11,12 $\pm$ 0,39 ^b	13,48 $\pm$ 0,91 ^c
	Fraksi <i>n</i> -butanol	12,34 $\pm$ 0,26 ^c	8,03 $\pm$ 0,74 ^c	-	-

Keterangan: K(+) = Kontrol positif, K(-) = Kontrol negatif, - = Tidak ada aktivitas
Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Identifikasi jamur endofit dilakukan berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis, sehingga penentuan genus masih bersifat tentatif, kelanjutan yang disarankan untuk identifikasi isolat jamur endofit adalah menggunakan pendekatan molekuler.

Beberapa genus yang ditemukan, seperti *Alternaria* dan *Lichtheimia*, diketahui memiliki spesies yang bersifat oportunistik patogen pada manusia, terutama pada individu dengan sistem imun lemah. Oleh karena itu, meskipun isolat-isolat ini menunjukkan potensi bioaktivitas,

penggunaannya sebagai sumber senyawa antibakteri memerlukan kehati-hatian dan harus disertai dengan uji toksisitas serta uji keamanan lanjutan sebelum dapat dipertimbangkan untuk aplikasi farmasi.

Fermentasi jamur endofit menggunakan media PDY karena media ini menyediakan nutrisi yang mendukung pertumbuhan fungi endofit. Media cair digunakan karena menghasilkan biomassa dan senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan media padat (20). Selama proses fermentasi, agitasi menjaga distribusi nutrisi tetap merata sehingga penyerapan nutrisi oleh jamur endofit berlangsung lebih optimal.

Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan alat Shaker incubator 130 rpm (putaran/menit) selama 14 hari pada suhu kamar. Tujuan menggunakan alat Shaker incubator untuk menggerakkan media dengan temperatur dan kecepatan tertentu sehingga nutrisi tersebar secara efektif dan pertumbuhan mikroba merata. Fermentasi dilakukan untuk mendorong isolat fungi endofit mencapai fase stasioner. Pada fase ini, sintesis metabolit sekunder mulai berlangsung seiring dengan berkurangnya beberapa komponen nutrisi utama dalam media pertumbuhan. Nutrisi yang menjadi faktor pembatas antara lain gula sebagai sumber karbon dan protein sebagai sumber asam amino. Kondisi tersebut memicu pelepasan senyawa hasil proses katabolisme yang diklasifikasikan sebagai metabolit sekunder (21). Hasil fermentasi kemudian disentrifugasi terlebih dahulu untuk mendapatkan supernatan, pemisahan oleh sentrifus dilakukan karena mikroorganisme akan memproduksi metabolit sekunder selama proses tersebut (22).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri jamur endofit dari kulit batang rimbang terhadap bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhi* menunjukkan diameter daerah hambatan yang berbeda-beda Tabel 3. Aktivitas antibakteri yang paling besar ditunjukkan oleh supernatan isolat jamur endofit. Hasil ini didukung oleh pengujian fitokimia yang menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder pada supernatan isolat yaitu alkaloid, terpenoid dan saponin. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat tidak menunjukkan adanya aktivitas yang dapat diamati dari tidak terbentuknya zona bening di

sekeliling cakram. Hal ini juga didukung dari hasil uji fitokimia yang menunjukkan tidak ada metabolit sekunder yang terdeteksi pada pengujian. Tidak terdeteksinya senyawa pada fraksi etil asetat dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain rendahnya produksi senyawa semi-polar oleh jamur endofit yang diuji, konsentrasi metabolit yang berada di bawah batas deteksi metode skrining, atau kemungkinan bahwa senyawa bioaktif yang dihasilkan bersifat lebih polar sehingga tetap berada pada fase air dan tidak terekstraksi secara optimal oleh pelarut etil asetat.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 12600 menunjukkan aktivitas paling baik adalah supernatan FEST-K1 dengan diameter hambat 15,09 mm, terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 11778 adalah supernatan FEST-K1 dengan diameter hambat 13,69 mm, terhadap bakteri *E. coli* ATCC 11775 adalah supernatan FEST-K4 dengan diameter hambat 13,78 mm, terhadap bakteri *S. typhi* ATCC 14028 adalah supernatan FEST-K5 dengan diameter hambat 15,45 mm Gambar 2; Tabel 3.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jamur endofit dari kulit batang *S. torvum* memiliki potensi antibakteri awal, namun belum dapat dikategorikan sebagai aktivitas yang kuat. Perbedaan daya hambat antar isolat kemungkinan berkaitan dengan perbedaan kapasitas biosintesis metabolit sekunder masing-masing genus jamur. Diameter hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram menunjukkan hasil pengukuran yang berbeda-beda disebabkan karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada isolat supernatan dan fraksi-fraksi supernatan yang berbeda-beda. Perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan dan fraksi jamur endofit dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk karakteristik struktur sel jamur uji. Selain itu, perbedaan tersebut juga dapat disebabkan oleh laju difusi supernatan dari kertas cakram ke media uji serta variasi kandungan senyawa yang terdapat pada masing-masing supernatan. Faktor lain yang turut berperan meliputi jenis media yang digunakan, ukuran molekul dan stabilitas senyawa antimikroba, konsentrasi bahan kimia, kondisi inkubasi, serta

jumlah mikroorganisme yang diinokulasikan (23).

Tidak ditemukannya aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat sejalan dengan hasil skrining fitokimia, yang menunjukkan tidak adanya metabolit sekunder terdeteksi. Hasil ini memperlihatkan bahwa senyawa antibakteri utama kemungkinan berada pada fraksi polar (supernatan) atau berada pada konsentrasi yang tidak cukup untuk memberikan efek hambat setelah proses fraksinasi.

Daya hambat dihasilkan dari masing-masing supernatan dan fraksi merupakan aktivitas dari metabolit sekunder yang diproduksi oleh jamur endofit pada kulit batang *B. purpurea*. Metabolit sekunder ini berpotensi sebagai antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin.

Jamur endofit seperti *Acremonium* dan *Paecilomyces* telah dilaporkan mampu menghasilkan senyawa bioaktif berupa peptida antimikroba, alkaloid, atau metabolit poliketida. Sementara itu, genus *Alternaria* dikenal menghasilkan senyawa toksin dan metabolit aromatik yang pada konsentrasi tertentu dapat menunjukkan aktivitas antibakteri, meskipun juga berpotensi toksik. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan antara jenis jamur endofit dan potensi biosintesis metabolit antibakteri, namun karakterisasi senyawa secara kimia dan pengujian toksisitas masih diperlukan untuk memastikan keamanan dan mekanisme kerja yang spesifik.

Analisis data menggunakan uji statistik ANOVA satu arah, dimulai dari pengujian homogenitas dan normalitas diperoleh nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi secara homogen dan normal. Selanjutnya hasil pengujian analisis statistik ANOVA satu arah menunjukkan hasil, terdapat perbedaan diameter hambatan yang signifikan ($p < 0,05$) antara supernatan dan fraksi hasil fermentasi jamur endofit terhadap kontrol positif.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, dipengaruhi oleh kemampuan difusi senyawa dalam media agar, sehingga tidak sepenuhnya merefleksikan potensi antibakteri suatu senyawa. Penelitian ini juga belum mencakup uji toksisitas atau uji

keamanan biologis, sehingga potensi pemanfaatan isolat jamur endofit sebagai sumber senyawa antibakteri masih memerlukan kajian lanjutan. Oleh karena itu, hasil penelitian ini lebih tepat dipandang sebagai studi pendahuluan yang membuka peluang eksplorasi lebih lanjut melalui isolasi senyawa aktif, penentuan struktur kimia, serta evaluasi aktivitas dan keamanan secara in vitro maupun in vivo.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat 5 jenis isolat murni jamur endofit kulit batang rimbang (*Solanum torvum* Swartz) dengan kode FEST-K1, FEST-K2, FEST-K3, FEST-K4 dan FEST-K5. Pada penelitian ini menggunakan sampel isolat jamur endofit kulit batang rimbang dengan kode FEST-K1 (*Arthrographis*), FEST-K2 (*Acremonium sp.*), FEST-K3 (*Paecilomyces sp.*), FEST-K4 (*Lictheimia*) dan FEST-K5 (*Alternaria sp.*). Hasil uji aktivitas antibakteri supernatan dan fraksi-fraksi hasil fermentasi isolat jamur endofit menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan kategori moderat terhadap bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, dan *E. coli*. Hasil analisis statistik ANOVA satu arah, terdapat perbedaan diameter hambat yang signifikan ($p < 0,05$) dari setiap supernatan dan fraksi-fraksi hasil fermentasi jamur endofit terhadap kontrol positif. Evaluasi aktivitas antibakteri pada penelitian ini masih terbatas pada metode difusi cakram, maka penelitian lanjutan sangat diperlukan, meliputi penentuan nilai MIC dan MBC, pemprofilan metabolit menggunakan pendekatan LC-MS, optimasi proses fermentasi dan ekstraksi, serta identifikasi dan karakterisasi senyawa aktif guna memastikan potensi dan keamanan pengembangan jamur endofit sebagai sumber antibakteri.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (P3M) STIFAR Riau yang telah mendanai penelitian ini.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

Referensi

1. Wiryani IA, Sinta Devi NNAS, Melinda MA, Leliqia NPE. Review: Studi Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Takokak (*Solanum torvum* SW.). Kartika J Ilm Farm. 2023;8(2).
2. Rasyid P, Saraswati D, Mustapa MA. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Takokak (*Solanum torvum*) Terhadap Bakteri. Jur Farm Fak Ilmu Kesehat dan Keolahragaan Univ Negeri Gorontalo. 2015;3(3).
3. Christian NC, Pierre NJ, Flora L-YC, Jacques Y, Catherine KP, Laurelle HNE, et al. Evaluation of the Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Extracts of Endophytic Bacteria Isolated from *Solanum torvum* Sw (Solanaceae). Sch Int J Tradit Complement Med. 2022;5(2).
4. Dwilestari H, Awaloei, J. Posangi and R. Bara. Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Pada Daun Mangrove *Sonneratia Alba* Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. eBiomedik, vol. 3, no. 1, 2015, doi:10.35790/ebm.3.1.2015.7414.
5. Octaviani M, Ameliah WY, Frimayanti N, Djohari M, Fadhli H. Isolation of Endophytic Fungus from Leaves of *Uncaria cordata* (Lour.) Merr and Antibacterial Activity Against *Propionibacterium acnes* and *Escherichia coli*. Borneo J Pharm. 2022;5(3):279–87.
6. Rollando R. Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. Maj Farm dan Farmakol. 2019;23(2).
7. Octaviani M, Jannah M, Wulandari R, Utami R, Fadhli H. Isolation and Antibacterial Activity Isolate of The Endophytic Fungi of Shallot Tubers (*Allium cepa* L.) Against Pathogen Bacteria. 2024;14(2):126–36.
8. Qin Y, Lu H, Qi X, Lin M, Gao C, Liu Y. Recent Advances in Chemistry and Bioactivities of Secondary Metabolites from the Genus *Acremonium*. Vol. 10, Journal of Fungi. 2024.
9. Dai ZB, Wang X, Li GH. Secondary Metabolites and Their Bioactivities Produced by *Paecilomyces*. Vol. 25, Molecules. 2020.
10. Zhao S, Li J, Liu J, Xiao S, Yang S, Mei J. Secondary metabolites of *Alternaria*: A comprehensive review of chemical diversity and pharmacological properties. Vol. 13, Frontiers in Microbiology. 2023.
11. Khazaal HT, Khazaal MT, Abdel-Razek AS, Hamed AA, Ebrahim HY, Ibrahim RR. Antimicrobial, antiproliferative activities and molecular docking of metabolites from *Alternaria alternata*. AMB Express. 2023;13(1).
12. Kumala S. Mikroba Endofit. Jakarta: PT. Isfi; 2014.
13. Murdiah S. Fungi Endofit pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat di Kawasan Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Praktikum Mata Kuliah Mikologi. J Pendidik Biol Indones. 2019;3(1).
14. Kumala S, Gabriel G. Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Kapang Endofit daun tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr.) secara In Vitro. JFIOnline. 2019;11(2):65–73.
15. J.B Harbone. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung. 1996;2.
16. Hasiani VV, Ahmad I, Rijai L. Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). J Sains dan Kesehat. 2015;1(4).
17. Akinyemi KO, Oluwa OK, Omomigbehin EO, Nuamsetti T, Dechayuenyong P, Tantipaibulvut S, et al. Antibacterial Activity of *Citrus sinensis* (Orange) Peel on Bacterial Isolates from Wound. BMC Complement Altern Med. 2016;3(1).
18. Faizal Fathurrohman M, Hidayati Pratiwi R, Azdar S M, Asrianto, Yunus R, Fusvita A. Mikrobiologi Farmasi dan Parasitologi. PT. Global Eksekutif Teknologi. 2022.
19. Sciortino C V. Atlas of Clinically Important Fungi. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. 2017.
20. Ilyas M, Raunsai MM, Tiwi P, Palupi KD. Isolation And In Vitro Bioassays of

- Endophytic Fungi Associated Isolation And In Vitro Bioassays Of Endophytic Fungi Associated With Lidah Buaya (*Aloe vera* (L .) Burm . f .) Isolasi dan Uji In Vitro dari Jamur Endofit yang Berasosiasi dengan Tanaman L. Ber Biol. 2024;23(2):197–206.
21. Triastuti A. Fungal endophytes as the source of medicinal natural product Jamur endofit sebagai sumber obat bahan alam. J Ilm Farm. 2020;16(1):52–73.
 22. Diether NE, Willing BP. Microbial fermentation of dietary protein: An important factor in diet–microbe–host interaction. Vol. 7, Microorganisms. 2019.
 23. Nainggolan M, Patilaya P, Sumantri IB, Sitompul E, Sitorus P. Mikrobiologi Farmasi. Lab Biol Farm USU. 2019.