

Research Article

Skrining Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik Fungi Endofit Daun Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

Screening of Antibacterial and Cytotoxic Activities from Endophytic Fungi of Red Betel Plant Leaves (Piper crocatum Ruiz & Pav)

Dwi DA Bakhtra^{1*}, Aried Eriadi¹, Gita Julianti², Ulvah Azli²

¹Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Jl. Kurao Pagang, Dalam, Kec. Nanggalo, Kota Padang, Sumatera Barat 25147

*Penulis korespondensi

Email: dwidinni89@gmail.com

Received: June 28, 2024

Accepted: February 12, 2025

Abstrak

Fungi endofit adalah salah satu mikroorganisme yang dapat hidup di pada bagian dari suatu jaringan tanaman. Metabolit sekunder yang diproduksi oleh fungi endofit memiliki berbagai aktivitas biologis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan bioaktivitas antibakteri serta sitotoksik fungi endofit dari daun tanaman sirih merah (*Piper crocatum*). Proses isolasi fungi endofit dengan media SDA dan diperoleh 5 fungi yang berbeda. Fungi endofit dikultivasi pada medium beras dan ekstraksi dilakukan secara berulang dengan etil asetat secara maserasi. Ekstrak etil asetat dari fungi endofit diuji bioaktivitas dengan teknik difusi kertas cakram dan metode BSLT. Hasil skrining aktivitas antibakteri, ekstrak etil asetat fungi endofit memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *Bacillus* sp. Zona inhibisi yang didapatkan dari 5 isolat fungi bervariasi dengan rentang diameter hambat ke 5 fungi adalah 11,54 mm - 17,96 mm. Hasil skrining aktivitas sitotoksik, 4 ekstrak etil asetat fungi endofit bersifat toksik ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$), dan 1 fungi endofit bersifat sangat toksik (JDS5) dengan nilai LC_{50} 17,94 $\mu\text{g/mL}$. Hasil metabolit sekunder menunjukkan fenol, flavonoid, steroid dan kelompok triteroid. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa fungi endofit dari tanaman daun sirih merah berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber alternatif penghasil senyawa antibakteri dan sitotoksik.

Kata kunci: antibakteri; sitotoksik; *Piper crocatum* Ruiz & Pav; fungi endofit

How to Cite:

Bakhtra DDA, Eriadi A, Julianti G, Azli U. H. Skrining aktivitas antibakteri dan sitotoksik fungi endofit daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). Journal of Medicine and Health. 2025; 7(1): 59-68. DOI: <https://doi.org/10.28932/jmh.v7i1.9242>

© 2025 The Authors. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License. 

Research Article

Abstract

*Endophytic fungi are microorganisms that can live in parts of plant tissue. Secondary metabolites produced by endophytic fungi have various biological activities. The purpose is to determine the antibacterial and cytotoxic bioactivity of endophytic fungi from red betel leaves (*Piper crocatum*). The process of isolating endophytic fungi with SDA media and obtaining 5 different fungi. Endophytic fungi were cultivated on rice media and extraction was carried out repeatedly with ethyl acetate by maceration. Ethyl acetate extracts from endophytic fungi were tested for bioactivity using disc paper diffusion techniques and the BSLT method. The results of antibacterial activity screening, ethyl acetate extracts of endophytic fungi have antibacterial activity against *P.aeruginosa* and *Bacillus* sp. The inhibition zones obtained from five fungi isolates varied with a range of inhibition diameters for the 5 fungi at 11.54 mm - 17.96 mm. The results of cytotoxic activity screening, four ethyl acetate extracts of endophytic fungi are toxic ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$), and 1 endophytic fungus is very toxic (JDS5) with an LC_{50} value of 17.94 $\mu\text{g/mL}$. The results of secondary metabolites showed phenols, flavonoids, steroids, and terpenoid groups. From the results of the study, it was concluded that endophytic fungi from red betel leaf plants have the potential to be developed into an alternative source of antibacterial and cytotoxic compounds.*

Keywords: antibacterial; cytotoxic; *Piper crocatum* Ruiz & Pav; endophytic fungi

Pendahuluan

Indonesia adalah negara tropis yang kaya keanekaragaman hayati, berpotensi untuk pengembangan metabolit sekunder dalam terapi pengobatan salah satunya daun dari tanaman sirih merah. Secara empiris, daun sirih merah digunakan sebagai terapi alternatif pengobatan dari alam untuk berbagai penyakit. Biasanya cara penggunaan daun dari tanaman sirih merah tanpa pengolahan, pengeringan (simplisia) dan ekstrak yang dibuat dalam bentuk sediaan kapsul. Tanaman ini menghasilkan golongan senyawa flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin.^{1,2} Daun sirih merah memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antidiabetik, sitotoksik, dan antiinflamasi.³⁻⁸

Mikroorganisme endofit terdapat di jaringan tanaman, hidup berkoloni pada jaringan dan bersimbiosis secara komensalisme pada tanaman.⁹ Fungi endofit diisolasi dari semua bagian tumbuhan. Fungi endofit sangat unik, berbeda tempat tumbuh tanaman dapat menghasilkan fungi endofit yang berbeda spesies karena *host* dari fungi endofit akan mempengaruhi metabolit sekunder. Mikroorganisme endofit sangat berpotensi untuk dieksplorasi dan menemukan senyawa aktif yang berasal dari alam serta bermanfaat pada kesehatan. Fungi endofit menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat seperti dalam berbagai bidang medis, pertanian, dan industri.¹⁰

Beberapa fungi endofit yang diisolasi dari tanaman berpotensi menghasilkan metabolit sekunder yang memberikan bioaktivitas.¹¹⁻¹² Ekstrak etil asetat fungi endofit dari daun tanaman sirih merah menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*¹¹, menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *E.coli* dan *S.aureus*, dan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel

Research Article

WiDr dan T47D.¹³⁻¹⁴ Tempat hidup *host* yang berbeda akan memiliki perbedaan dari fungi endofit serta berbeda aktivitas dan kandungan kimianya. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian adalah untuk skrining aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan sitotoksik menggunakan metode BSLT dari fungi endofit yang diisolasi dari bagian daun tanaman sirih merah.

Metode

Sampel bagian daun segar tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) diidentifikasi pada Herbarium Universitas Andalas (ANDA).

Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit: Daun sirih merah dibilas dengan aquadest, digerus dalam lumpang steril, masukkan ke dalam erlenmeyer 10 gram lalu ditambahkan 100 mL aquadest. Buat pengenceran sampai konsentrasi 10^{-6} . Fungi endofit pada media SDA dimurnikan dengan memisahkan antara koloni fungi ke media baru, dan diinkubasi pada suhu ruang ($20-25^{\circ}\text{C}$). Pertumbuhan dapat diamati pada hari ke 5 sampai hari ke 7. Koloni yang memiliki bentuk koloni berbeda (bentuk dan warna) dapat dianggap sebagai isolat yang berbeda. Proses pemurnian dilakukan hingga didapatkan koloni tunggal dari fungi endofit.¹⁵

Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis: Karakterisasi fungi endofit dilakukan secara makroskopis (bentuk koloni). Pengamatan makroskopis dilakukan secara visual terhadap bentuk koloni fungi. Pengamatan koloni secara makroskopis dan mikroskopis, dilakukan berdasarkan kriteria bentuk visual koloni, dan mikroskopis dengan menggunakan *lactophenol blue* dan amati di bawah mikroskop.

Kultivasi Dan Ekstraksi Fungi Endofit: Fungi dikultur pada medium beras pada 100 gram beras, tambahkan 110 mL aquadest.¹⁵ Hasil kultivasi dimaserasi dengan etil asetat, dan maserat diuapkan secara *in vacuo*.

Skrining Aktivitas Antibakteri: Skrining aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan kertas cakram. Kloramfenikol *disc* sebagai kontrol positif dan Dimetil Sulfoksida sebagai kontrol negatif. Ekstrak fungi endofit dibuat dengan konsentrasi 10%. Bakteri yang digunakan adalah *P. aeruginosa* dan *Bacillus* sp. inkubasi dilakukan 24 jam pada temperatur ruangan.^{12,16}

Uji Aktivitas Sitotoksik: Telur artemia salina diinkubasi dengan 500 mL menggunakan air laut steril pada suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Uji aktivitas sitotoksik menggunakan konsentrasi uji 1000; 100; 10 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan larutan untuk pengujian aktivitas sitotoksik dengan memipet masing-masing 500; 50; 5 μL dari larutan induk menggunakan pipet mikro.

Research Article

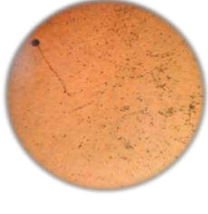
Setiap konsentrasi ditambahkan DMSO 50 µL yang bertujuan untuk melarutkan ekstrak fungi, dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol negatif menggunakan DMSO 50 µL.¹⁶

Skrining metabolit sekunder: Skrining metabolit sekunder untuk mengidentifikasi kandungan fenol, alkaloid, steroid dan terpenoid dari ekstrak etil asetat fungi endofit tanaman sirih merah.¹²

Hasil

Hasil identifikasi di ANDA diketahui spesies sampel adalah *Piper crocatum* Ruiz & Pav dengan family *Piperaceae*. Hasil isolasi fungi endofit diperoleh 5 fungi berbeda secara makroskopis dan mikroskopis yang bersimbiosis dengan tanaman sirih merah (Tabel 1). Dari 100 gram media kultivasi didapatkan berat ekstrak fungi endofit bagian daun tanaman sirih merah dengan bobot bervariasi (Tabel 2).

Tabel 1 Makroskopis dan Mikroskopis Fungi Endofit Bagian Daun *P. crocatum*

Kode Fungi	Makroskopis	Mikroskopis	Kode Fungi	Makroskopis	Mikroskopis
JDS1			JDS4		
JDS2			JDS5		
JDS3					

Tabel 2 Berat Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Daun Daun *P. crocatum*

Kode Sampel	Berat Ekstrak Etil Asetat (mg)
JDS1	431
JDS2	624
JDS3	978
JDS4	677
JDS5	756

Research Article

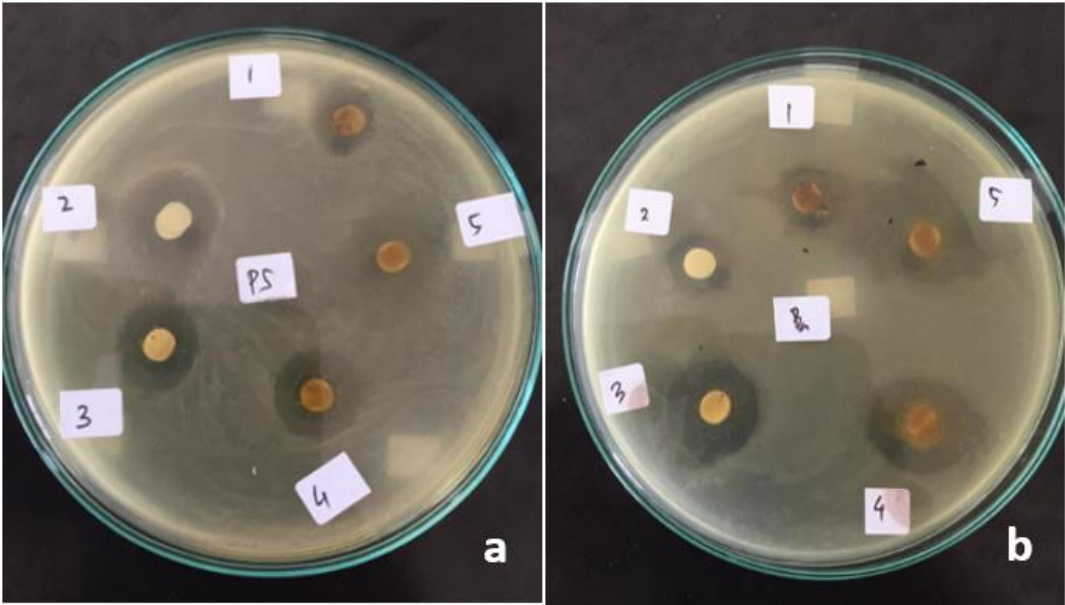
Dari hasil skrining aktivitas antibakteri, fungi endofit daun sirih merah berpotensi dalam menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri (Tabel 3). Ekstrak JDS4 merupakan ekstrak fungi endofit yang potensial, karena memiliki zona hambat yang lebih tinggi pada *P. aeruginosa* dan *Bacillus* (Gambar 1).

Dari hasil skrining aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT, fungi endofit daun sirih merah dapat menginduksi kematian larva *Artemia salina* yang dilihat dari persentase kematiannya (Tabel 4) dan memiliki aktivitas sitotoksik (Gambar 2).

Dari hasil skrining kandungan metabolit sekunder, ekstrak fungi endofit daun tanaman sirih merah mengandung beberapa metabolit sekunder yang potensial sebagai antibakteri dan sitotoksik, yaitu flavonoid, fenolik dan steroid (Tabel 5).

Tabel 3 Aktivitas Skrining Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit

Ekstrak Etil Asetat	Diameter Zona Inhibisi (mm) ± SD	
	BS	PA
JDS1	12,53 ± 1,7	11,84 ± 1,0
JDS2	14,80 ± 2,2	11,54 ± 1,4
JDS3	13,37± 1,6	13,01 ± 0,9
JDS4	17,96 ± 5,3	16,45 ± 3,8
JDS5	17,15 ± 3,5	16,99 ± 3,7
Kontrol positif	24,47	23,64
Kontrol negatif	-	-

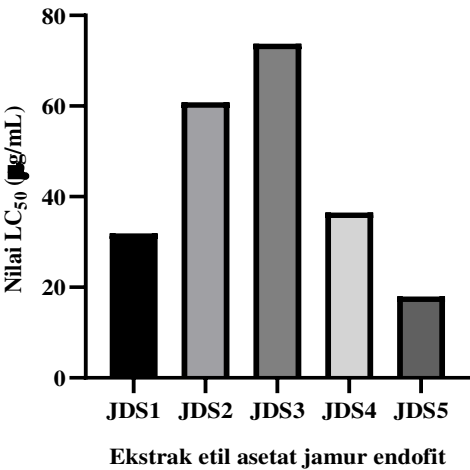


Gambar 1 Hasil Uji Antibakteri terhadap (a) *Pseudomonas aeruginosa*; (b) *Bacillus* sp

Research Article

Tabel 4 Persentase Kematian Larva *Artemia salina*

Ekstrak Etil Asetat	Konsentrasi (µg/mL)	Kematian Larva (%)
JDS1	1000	100
	100	63
	10	26
JDS2	1000	100
	100	33
	10	10
JDS3	1000	100
	100	26
	10	6
JDS4	1000	100
	100	63
	10	20
JDS5	1000	100
	100	93
	10	30



Gambar 2 Nilai LC₅₀ Ekstrak Fungi Endofit Daun *P. crocatum*

Tabel 5 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Daun *P. crocatum*

Ekstrak Fungi	Metabolit Sekunder			
	Fenol	Alkaloid	Steroid	Flavonoid
JDS1	+	-	-	-
JDS2	+	-	-	-
JDS3	+	-	-	-
JDS4	+	-	-	+
JDS5	+	-	+	+

Research Article



Gambar 3 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi (A 366)

Diskusi

Tanaman sirih merah merupakan tanaman dengan bioaktivitas bervariasi karena menghasilkan senyawa golongan alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid.¹⁷ Fungi endofit merupakan jenis fungi yang identik dan hidup pada jaringan tanaman. Tanaman sirih merah adalah memiliki fungi endofit.^{12,14} Fungi endofit hasil isolasi berpotensi dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Dari hasil penelitian, fungi endofit yang berhasil diisolasi yang mempunyai bentuk makroskopis dan mikroskopis yang berbeda dianggap fungi yang berbeda, sehingga berhasil mengelompokkan 5 koloni fungi yang berbeda.

Isolat tunggal fungi endofit dikultivasi pada media beras karena beras memiliki nutrisi yang lebih kompleks dari media agar lainnya, dan harga yang terjangkau. Pada proses kultivasi, fungi diinkubasi selama 30-40 hari. Terdapatnya beberapa kondisi yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba seperti besar inokulum, nutrisi substrat, air, pH serta temperatur selama proses inkubasi.

Hasil kultivasi di maserasi dengan menggunakan etil asetat. Maserasi digunakan untuk mencegah terjadinya penguraian zat aktif akibat pemanasan selama proses ekstraksi. Dari proses ekstraksi didapatkan berat ekstrak yang berbeda-beda, hal ini disebabkan karena kemampuan fungi endofit berbeda-beda dalam menghasilkan metabolit sekunder. Dari penelitian terdahulu, berbeda spesies fungi endofit akan menghasilkan bioaktivitas yang berbeda-beda.^{16,20}

Dari hasil skrining aktivitas antibakteri, ekstrak etil asetat fungi endofit memiliki aktivitas terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *Bacillus* sp, ekstrak etil asetat fungi endofit JDS4 merupakan ekstrak fungi endofit yang potensial di antara ekstrak fungi yang lainnya, pada *P.aeruginosa* memiliki zona inhibisi yang paling luas dan pada *Bacillus* sp juga memberikan zona inhibisi yang cukup besar. Fungi endofit daun sirih merah menghambat pertumbuhan

Research Article

B.subtilis dan *E.coli*.¹⁴ Selain itu, fungi endofit daun sirih merah juga mempunyai aktivitas antibakteri kategori kuat pada *S.aureus*.¹²

Secara umum keseluruhan ekstrak etil asetat fungi endofit daun tanaman sirih merah memiliki zona inhibisi lebih luas pada *Bacillus* sp. Bakteri gram positif sangat responsif dibanding gram negatif karena morfologi kompleks yang dimiliki dinding sel bakteri gram negatif yang terdiri dari tiga lapis sedangkan bakteri gram positif memiliki morfologi dinding sel lapisan tunggal.²¹

Dari hasil skrining aktivitas sitotoksik, nilai LC_{50} menentukan jenis aktivitas sitotoksik dengan menggunakan metode BSLT. Kategori penentuan LC_{50} yaitu sangat toksik ($<30 \mu\text{g/mL}$), toksik ($30-1000 \mu\text{g/mL}$) dan tidak toksik ($> 1000 \mu\text{g/mL}$)¹⁸. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari lima ekstrak etil asetat fungi endofit tanaman sirih merah, kategori toksik dimiliki 4 ekstrak yaitu dengan kode JDS1, JDS2, JDS3, JDS4, dan 1 ekstrak bersifat sangat toksik yaitu ekstrak etil asetat JDS5. Semakin kecil nilai LC_{50} suatu senyawa, maka semakin berpotensi senyawa tersebut dikembangkan dalam pencarian sumber pengobatan baru dalam terapi kanker.

Dari hasil skrining fitokimia, semua ekstrak fungi endofit mengandung senyawa fenol. Mekanisme golongan fenol sebagai antibakteri yaitu dengan denaturasi proteien sehingga menyebabkan berhentinya proses metabolisme sel bakteri. Berhentinya proses metabolisme disebabkan semua aktivitas metabolisme dari sel bakteri dikatalis oleh enzim. Penghentian proses metabolisme memicu terjadinya kematian sel bakteri.¹⁹ Golongan steroid mempengaruhi bagian fosfolipid yang terdapat pada membran, karena permeabel terhadap senyawa yang bersifat lipofilik menyebabkan penurunan dari integritas membran dan terjadinya gangguan secara morfologis pada membran.

Mekanisme yang terjadi antara senyawa kimia dengan bakteri melalui teori khelat (*Chelation theory*), menurunnya polaritas dari ion-ion logam akibat berikatan dengan ligan karena terjadinya ketidakstabilan berbagai orbital ligan dan memberikan sebagian muatan positif ion logam dengan gugus donor sehingga lipofilitasnya meningkat dan kompleksnya dapat berpenetrasi sehingga masuk ke dalam membran bakteri.¹¹

Penelitian ini merupakan penelitian dasar dalam penemuan dan pengembangan senyawa bioaktif dengan melibatkan mikroba yang diisolasi dari tanaman. Disarankan peneliti selanjutnya untuk menggali respon senyawa bioaktif yang dihasilkan mikroba endofit terhadap berbagai bakteri dan melakukan pengujian aktivitas sitotoksik dengan menggunakan berbagai macam sel kultur dari kanker.

Research Article

Simpulan

Fungi endofit yang diisolasi dari daun sirih merah menunjukkan aktivitas antibakteri dan sitotoksik yang signifikan. Ekstrak etil asetat dari fungi endofit ini menunjukkan bioaktivitas sebagai antibakteri yang lebih potensial pada bakteri gram positif, dengan mekanisme kerja yang melibatkan denaturasi protein dan gangguan integritas membran sel. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fungi ini berpotensi menjadi sumber aktivitas antibakteri dan sitotoksik yang bernilai tinggi. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam penemuan *lead compound* untuk pengembangan obat berbasis bahan alam. Diperlukan penelitian lanjutan yang lebih mendalam dan spesifik untuk mengeksplorasi bioaktivitas fungi endofit dari daun tanaman sirih merah secara lebih komprehensif.

Daftar Pustaka

1. Ebadi M. Pharmacodynamic basic of herbal medicine: alkaloids: manuka and fungal. Diseases: Flavonoids. New York: CRC Press; 2002: 179-84, 189-92, 393-403.
2. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti NP. Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts. Curr Biochem.2019; 5(3):1–10.
3. Widiana A, Marianti A. Aktivitas Antihiperglikemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah Pada Tikus Hiperglikemia Induksi Aloksan. Life Science. 2022; 11(1):68–77.
4. Aulia ZS, Purba FK. Studi Literatur: Potensi Daun Sirih Merah (Red Betel Poliis) Sebagai Herbal Indonesia Antidiabetes. Jurnal Kesehatan Unggul Gemilang. 2023;7(12): 8-15.
5. Emelda, Kusumawardani N, Alfiana RD, Saputri D, Moch.Saiful B. Efek Anti-Inflamasi Pemberian Oral Dan Topikal Daun Sirih Merah Dan Minyak Kayu Manis. Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian. 2022; 7(3):595–608.
6. Falugah F, Posangi J, Yamlean P. Uji Efek Antibakteri Fungi Endofit Pada Tumbuhan Sereh (*Cymbopogon citratus*) pada Bakteri Uji Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli. Pharmacon. 2019; 8(3):705.
7. Adrianto M, Widodo GP, Puspitasari I. Keamanan Ekstrak Daun Sirih Merah Pada Lambung Tikus Putih Wistar Sebagai Terapi Antiinflamasi. Sentri: Jurnal Riset Ilmiah. 2024; 3(1):188–94.
8. Nerdy N, Lestari P, Sinaga JP, Ginting S, Zebua NF, Mierza V, Bakri TK. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach.) lethality test of ethanolic extract from green betel (Piper beetle Linn.) and red betel (Piper *crocatum* Ruiz and Pav.) through the soxhletation method for cytotoxicity test. Macedon J Med Sci. 2021; 9:407–12.
9. Tan RX, Zou WX. Endophytes: A rich source of functional metabolites. Nat Prod Rep. 2001; 18(4):448–59.
10. Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. Microbiol Mol Biol Rev. 2003; 67(4):491–502.
11. Pakaya MS, Ramadhani FN, Ente MR, Rauf SA. Efektivitas Fraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Lamun (*Thalassia hemprichii*) dari Kawasan Teluk Tomini Sebagai Antibakteri Jerawat. J Syifa Sci Clin Res. 2024; 6(1):120–8.
12. Bakhtra DDA, Eriadi A, Putri SR. Skrining Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit dari daun tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Jurnal Farmasi Higea. 2020; 12(1):99–108.
13. Kusumawati DE, Pasaribu FH, Bintang M. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Curr Biochem. 2014; 1(1):45–50.
14. Astuti P, Wahyono, Nababan OA. Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from *Piper crocatum* Ruiz & Pav. Asian Pac J Trop Biomed.(Suppl 2). 2014; :S592–6.
15. Kjer J, Debbab A, Aly AH, Proksch P. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. Nature Prot. 2010; 5(3):479–90.
16. Bakhtra DDA, Yanwirasti Y, Wahyuni FS, Aminah I, Handayani D. Antimicrobial and Cytotoxic Activities Screening of Marine Invertebrate-Derived Fungi Extract from West Sumatera, Indonesia. Macedon J Med Sci. 2022; 10(4):1427–32.
17. Damayanti LM, Mahdiyah D, Noval, Nastiti K. Aktivitas Antibakteri Sediaan Sirup Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. Jurnal Surya Medika (JSM). 2024; 10(1): 295-300.

Research Article

18. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 1982; 45(1):31–4.
19. Miranti M, Prasetyorini, Suwary C. Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 90% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ekologia*. 2013; 13(1):9-18.
20. Hawksworth DL, Lücking R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spect*. 2017; 5(4): 79-95.
21. Pelzer MJ, Chan EC. *Dasar-dasar mikrobiologi*, (edisi 1). Jakarta : Universitas Indonesia; (2006). 99-157.