



## KAJIAN FITOKIMIA DAN SIFAT ANTI BAKTERI JAMUR ENDOFITIK RS-1 PADA RANTING *ANDROGRAPHIS PANICULATA* (SAMBILOTO) DENGAN MEDIA PERTUMBUHAN BERAS MERAH

Melisa Yolanda<sup>1</sup>, Sri Benti Etika<sup>2</sup>, Riga Riga<sup>3\*</sup>

<sup>1,2,3</sup> Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang

Diterima: 23 Mei 2022 Direvisi: 03 Juni 2022 Diterbitkan : 05 Juli 2022

### ABSTRACT

*Andrographis paniculata* (Sambiloto) was reported to produce secondary metabolites with various biological activities including antibacterial. The antibacterial compounds from sambiloto can also be explored from other sources. One of them is their endophytic fungi. The purpose of this research was to determine the antibacterial activity of endophytic fungi cultivated in red rice media. The steps of this research were isolation, cultivation, extraction, antibacterial test and test the content of secondary metabolites from endophytic fungi derived from the twigs of *A. paniculata*. An endophytic fungus labelled with RS-1 has been isolated from the twigs of *A. paniculata*. The results of the antibacterial activity test showed that the ethyl acetate extract of the fungus RS-1 had the ability to inhibit the growth of all tested bacteria at concentrations of 1%, 3%, and 5%. The ethyl acetate extract of the endophytic fungus RS-1 isolated from the *A. paniculata* has potential to produce antibacterial compound.

**Keywords:** endophytic fungus, antibacterial, sambiloto

### PENDAHULUAN

Penyalahgunaan antibiotik merupakan salah satu masalah yang cukup serius dalam dunia kesehatan dan menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik terhadap berbagai jenis bakteri. Hal ini disebabkan oleh beberapa penyebab, seperti penggunaan antibiotik tanpa resep dokter, serta konsumsi terhadap antibiotik yang berlebihan sehingga menyebabkan mutasi bakteri resistensi secara alami (Abraham 2015). Oleh sebab itu, diperlukan usaha untuk melakukan pencarian sumber alternatif yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang potensial dalam memproduksi senyawa bioaktif adalah jamur endofitik.

Jamur endofitik merupakan organisme yang hidup pada jaringan organ dalam tumbuhan, tanpa menimbulkan efek negatif atau kerugian bagi tanaman inangnya. Jamur endofitik adalah suatu kelompok mikroorganisme polifiletik yang sangat beraneka ragam. Jamur endofitik dapat tumbuh pada bagian daun, batang, ranting, akar maupun bunganya (Wang *et al.* 2016; Zhao *et al.* 2012).

Hubungan yang terjadi antara jamur endofitik dan tanaman inangnya adalah simbiosis mutualisme. Secara garis besar, jamur endofitik dapat menghasilkan senyawa aktif yang sama atau berbeda dengan tanaman inangnya. Jamur endofitik

\*Correspondence Address

E-mail: [rigakimia@fmipa.unp.ac.id](mailto:rigakimia@fmipa.unp.ac.id)

dilaporkan sebagai salah satu sumber potensial yang dapat memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Beberapa golongan metabolit sekunder yang diperoleh dari jamur endofitik berbeda dengan tumbuhan inangnya. Jamur endofitik ini dapat mensintesis berbagai metabolit sekunder dalam waktu yang relatif singkat sehingga mudah difermetasi dan dikultur. Oleh karena itu, jamur endofitik dapat dikultivasi dalam rentang waktu yang singkat dan dapat memproduksi metabolit sekunder dengan jumlah banyak dengan waktu yang singkat (Riga *et al.* 2019; Wei *et al.* 2020). Penelitian sebelumnya melaporkan terdapat beberapa golongan metabolit sekunder pada jamur endofitik seperti steroid, terpenoid, alkaloid dan senyawa turunan fenolik lainnya yang memiliki efek farmakologi.

Jamur endofitik potensial dapat ditemukan pada tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat tradisional, salah satunya dilaporkan dari tumbuhan sambiloto. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) tergolong tumbuhan obat yang dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri sehingga berpotensi sebagai inang yang baik bagi jamur endofitik.

Studi literatur terhadap tumbuhan *A. paniculata* menunjukkan berbagai bagian tumbuhan tersebut banyak digunakan dalam mengekstrak fitokimia aktif (Abu Bin Nyeem *et al.* 2017; Katakya dan Handique 2010). *A.*

*paniculata* mempunyai spektrum efek farmakologis yang luas seperti, antibakteri, hepatoprotektif, antijamur, antioksidan, antiinflamasi, antipiretik, dan antikanker. Berdasarkan hal tersebut, *A. paniculata* berpotensi sebagai inang yang baik untuk jamur endofitik (Pandey *et al.* 2019; Sharma *et al.* 2011).

Penelitian sebelumnya telah melaporkan mengenai analisis kandungan kimia dari jamur endofitik pada ranting tumbuhan *A. paniculata* dengan media tumbuh yang digunakan berupa media beras putih (Anshar *et al.* 2021). Akan tetapi studi antibakteri dari jamur endofitik yang berasosiasi dengan bagian ranting tumbuhan *A. paniculata* dengan menggunakan media tumbuh berupa media beras merah baru pertama kali dilaporkan pada penelitian ini. Berdasarkan hal tersebut, tujuan penelitian ini adalah melakukan studi terkait potensi jamur endofitik yang berasosiasi dalam jaringan ranting tumbuhan *A. paniculata* dengan media tumbuh media beras merah sebagai sumber senyawa antibakteri.

## METODE PENELITIAN

### Inokulasi Jamur Endofitik

Pada penelitian ini, tumbuhan *A. paniculata* sebagai tumbuhan inang untuk jamur endofitik diperoleh dari Tabing Banda Gadang, Kecamatan Nanggalo, Padang pada Bulan Januari 2021. Kemudian, permukaan bagian ranting segar *A. paniculata* berukuran

2x2 cm dibersihkan dengan air. Ranting tersebut selanjutnya dilakukan sterilisasi yang bertujuan untuk mematikan mikroba epifit yang terdapat di ranting *A. paniculata*. Ranting tersebut kemudian direndam selama 45 detik dalam larutan etanol 70% dan larutan NaOCl 3,5% selama 30 detik. Ranting steril ini kemudian ditempelkan pada media padat PDA sebagai kontrol negatif. Bagian ranting yang dipotong berukuran 1x1 cm guna diinokulasi di media PDA dan diinkubasi pada suhu 28°C. Jamur endofitik yang tumbuh setelah 7 hari kemudian, di sub-kultur ke media padat lainnya sehingga menghasilkan isolat tunggal jamur endofitik. Morfologi dan kriteria jamur endofitik yang baik akan dipilih untuk dilanjutkan dengan uji fitokimia (Riga dan Hakim 2021).

### **Kultivasi di media beras merah dan Ekstraksi Jamur Endofitik**

Jumur endofitik yang dihasilkan berupa isolat tunggal kemudian dikultivasi pada Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL beras merah (nasi merah) dan diinkubasi pada suhu 28°C. Kemudian fermentasi jamur endofitik dipanen setelah mencapai waktu optimum dan dilanjutkan proses diekstraksi sebanyak tiga kali dengan pelarut etil asetat sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat. Ekstrak etil asetat yang dihasilkan diuji aktivitas antibakteri dan kandungan metabolit sekunder.

### **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofitik**

Uji aktivitas antibakteri dari ketiga ekstrak jamur endofitik dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Alat yang digunakan pada tahapan ini adalah autoclave, laminar, cawan petri, gelas ukur, kertas cakram, jarum ose. Semua alat disterilisasi terlebih dahulu. Bahan yang digunakan antara lain media MHA, akuades, DMSO. Tiga bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*.

Sebanyak 20 µL masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5% (pelarut: DMSO), kontrol positif dan kontrol negatif diteteskan pada kertas cakram yang terletak diatas inokulan masing-masing bakteri uji. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksilin. Setelah diinkubasi 1x24 jam, aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak diukur dan dinyatakan dalam zona hambat. Aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak triplo terhadap tiga bakteri uji. Proses uji dilakukan kondisi aseptik.

### **Uji Kandungan Metabolit Sekunder**

#### *Terpenoid dan Steroid*

Ekstrak jamur RS-1 dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan amoniak-kloroform dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N dan dikocok kuat, lalu diamankan sehingga terbentuk dua lapisan.

Gunakan lapisan bawah dengan menempatkan di plat tetes dan dibiarkan menguap, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. Warna hijau-biru hasil positif terhadap steroid dan hasil positif terpenoid menghasilkan warna merah.

#### *Alkaloid*

Hasil lapisan atas pada uji steroid dan terpenoid dimasukkan kedalam tiga tabung reaksi. Kedalam setiap tabung reaksi secara berurutan ditambahkan reagen Dragendorf, reagen meyer dan reagen wagner. Endapan coklat, endapan putih dan endapan jingga yang terbentuk merupakan hasil positif dari alkaloid.

#### *Senyawa Fenolik*

Ekstrak jamur RS-1 dimasukkan kedalam 3 lubang plat tetes, dan ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Warna merah muda menunjukkan hasil positif dari senyawa fenolik.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tumbuhan *A. paniculata* adalah tanaman obat-obatan dan dapat dipastikan bahwa jamur endofitik yang akan tumbuh pada media inokulan ialah jamur endofitik atau jamur yang hidup dalam jaringan ranting *A. paniculata*. Di mana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi jamur endofitik dari bagian ranting tumbuhan *A. paniculata* sebagai senyawa antibakteri. Ranting yang telah steril diinokulasi di media

PDA yang telah ditambah antibiotik. Jamur endofitik yang tumbuh setelah 7 hari kemudian, di sub-kultur ke media padat lainnya sehingga menghasilkan dua isolat tunggal jamur endofitik. Pengamatan morfologi jamur endofitik dilanjutkan pada jamur endofitik dengan kode RS-1.



**Gambar 1.** Morfologi jamur RS-1

Jamur Rs-1 (Gambar 1) memiliki ciri makroskopik seperti, memiliki warna koloni putih berbentuk bulat dengan koloni yang memusat. Permukaan koloni jamur RS-1 cukup kasar dan tersebar tipis merata ke seluruh permukaan media. Koloni berwarna putih juga terdapat pada permukaan bagian bawah dari jamur endofitik RS-1. Jamur RS-1 dengan morfologi makroskopik tersebut belum pernah di laporkan dari tumbuhan *A. paniculata* (Calvo *et al.* 2002).

Selanjutnya jamur RS-1 dikultivasi ke dalam 25 Erlenmeyer 250 ml yang berisi media beras merah (nasi merah). Kultivasi dengan 25 Erlemeyer ini dilakukan untuk memperoleh massa ekstrak dengan jumlah yang banyak. Setelah dikultivasi dan telah mencapai tahan stasioner, jamur endofitik RS-1 dapat dipanen dan diekstraksi

menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak aktivitas antibakteri yang dilaporkan pada yang dihasilkan lalu dipekatkan sehingga Tabel 1.

didapat ekstrak pekat etil asetat.

Ekstrak pekat etil asetat yang dihasilkan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram (Riga *et al.* 2019). Tahapan uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap tiga bakteri uji, yaitu *E. coli*, *S. aureus* dan *S. pyogenes* serta memvariasi konsentrasi ekstrak sebanyak tiga variasi, yaitu 1%, 3%, dan 5%. Amoksilin merupakan kontrol positif yang digunakan pada uji antibakteri ini (Riga dan Hakim 2021). Hasil uji zona hambat dilakukan secara triplo untuk uji

Tabel 1 menyajikan bahwa ekstrak etil asetat jamur RS-1 hasil isolasi dari ranting tumbuhan *A. paniculata* mempunyai kemampuan dalam mengenal pertumbuhan semua bakteri uji. Kemampuan sebagai agen antibakteri dipengaruhi oleh ekstrak yang berkorelasi positif dan memiliki konsentrasi tinggi. Hal ini disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut semakin besar. Peningkatan tersebut akan menyebabkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji juga semakin meningkat (Riga dan Hakim 2021).

**Tabel 1.** Data zona hambat ekstrak etil asetat terhadap bakteri uji

Bakteri uji	Diameter Zona Hambat*			
	1%	3%	5%	Kontrol (+)
<i>E. coli</i>	6,57±0,25	9,57±0,32	11,2±0,17	15,2±0,36
<i>S. aureus</i>	2,43±0,21	7,07±0,23	9,13±0,21	12,97±0,21
<i>S. pyogenes</i>	0	5,37±0,15	8±0,26	10,33±0,21

\*Zona hambat ± standar deviasi

Uji positif antibakteri terhadap ekstrak etil asetat menandakan terdapatnya senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Kemudian ekstrak etil asetat dilakukan uji fitokimia (kandungan metabolit sekunder) yaitu, alkaloid, terpenoid, steroid, dan fenolik. Metabolit sekunder golongan alkaloid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak susunan komponen

peptidoglikan pada jaringan sel bakteri. Sedangkan steroid dan terpenoid yang termasuk senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antibakteri juga memiliki mekanisme kerja yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya dinding sel atau membran. Sehingga hal tersebut menyebabkan dinding sel tidak akan terbentuk secara sempurna (Kurniawan dan Aryana 2015). Senyawa fenolik yang

memiliki aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh lipofilisitas, sifat elektronik dan muatan polifenol yang dapat menghambat sistem kerja enzim reverse transkripsi dan DNA topoisomerase (Bouarab-Chibane *et al.* 2019; Kursia *et al.* 2018) Hasil uji kandungan kimia ekstrak etil asetat jamur endofitik RS-1 ditampilkan pada Tabel 2. Penelitian terkait Uji metabolit sekunder yang memiliki peran dalam aktivitas antibakteri pada ekstrak jamur RS-1 belum pernah dilakukan, dan perlu dilanjutkan untuk melengkapi informasi terkait senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat dari jamur endofitik RS-1.

**Tabel 2.** Hasil uji kandungan metabolit sekunder ekstrak etil asetat jamur RS-1

Uji Metabolit Sekunder	Hasil Uji
Terpenoid/steroid	+
Alkaloid	+
Fenolik	+

### KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat jamur endofitik RS-1 yang diisolasi dari tumbuhan *A. paniculata* menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri yaitu dengan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan terhadap tiga bakteri uji yaitu *E. coli*, *S. aureus* dan *S. pyogenes*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, E. P. 2015. "The Antibiotics." *Comprehensive Biochemistry* 11(4):181–224.
- Abu Bin Nyeem, Mohammad, Md Abdul Mannan, Mohammad Nuruzzaman, KM Kamrujjaman, and Samir Kumar Das. 2017. "Indigenous King of Bitter (Andrographis Paniculata): A Review." ~ 318 ~ *Journal of Medicinal Plants Studies* 5(2):318–24.
- Anshar, Varel, Al Khairi, Sri Benti Etika, Mariam Ulfah, Riga Riga, Article Info, Natural Sciences, and Universitas Negeri Padang. 2021. "Eksakta." *Eksakta* 21(02):137–44.
- Bouarab-Chibane, Lynda, Valérian Forquet, Pierre Lantéri, Yohann Clément, Lucie Léonard-Akkari, Nadia Oulahal, Pascal Degraeve, and Claire Bordes. 2019. "Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models." *Frontiers in Microbiology* 10(APR).
- Calvo, Ana M., Richard A. Wilson, Jin Woo Bok, and Nancy P. Keller. 2002. "Investigating the over Sporulation Effect of *A. Fumigatus* Induced by *P. Aeruginosa*." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66(3):51.
- Katky, A., and P. J. Handique. 2010. "A Brief Overview on *Andrographis Paniculata* (Burm. f) Nees., a High

- Valued Medicinal Plant: Boon over Synthetic Drugs.” *Asian Journal of Science and Technology* 6(Oktober):113-118.
- Kurniawan, B., and W. Aryana. 2015. “Binahong (Cassia Alata L.) For Inhibiting The Growth of Bacteria Escherichia Coli.” *J Majority* 4(4):100–104.
- Kursia, Sukriani, Rahmad Aksa, and Maria Magdalena Nolo. 2018. “Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit Dari Daun Kelor (Moringa Oleifera Lam.)” *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan* 4(1):30–33.
- Pandey, A., Smiley Gulati, Amit Gupta, and Y. Tripathi. 2019. “Variation in Andrographolide Content among Different Accessions of Andrographis Paniculata.” *The Pharma Innovation Journal* 8(4):140–44.
- Riga, Riga, and Euis Holisotan Hakim. 2021. “Aktivitas Sitotoksik Dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofitik Colletotrichum Gloeosporioides.” *Jurnal Farmasi Udayana* 10(2):193.
- Riga, Riga, Nizar Happyana, Armin Quentmeier, Chantale Zammarelli, Oliver Kayser, and Euis Holisotan Hakim. 2019. “Secondary Metabolites from Diaporthe Lithocarpus Isolated from Artocarpus Heterophyllus.” *Natural Product Research* 35(14):2324–28.
- Sharma, Pramod, Nitin Kumar, and Rupesh Dudhe. 2011. “Pharmacological Activity of Andrographis Paniculata : A Brief Review Pharmacologyonline 2 : 1-10 ( 2011 ) Pharmacological Activity of Andrographis Paniculata : A Brief Review.” *Pharmacologyonline* 2(January):11.
- Wang, Qinghu, Jinmei Jin, Nayintai Dai, Narenchaoketu Han, Jingjing Han, and Baiyinmuqier Bao. 2016. “Anti-Inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification, and High-Performance Liquid Chromatography Isolation of the Total Flavonoids from Artemisia Frigida.” *Journal of Food and Drug Analysis* 24(2):385–91.
- Wei, Jie, Feng Chen, Yumei Liu, Azierguli Abudoukerimu, Qian Zheng, Xiaobo Zhang, Yuping Sun, and Delixiati Yimiti. 2020. “Comparative Metabolomics Revealed the Potential Antitumor Characteristics of Four Endophytic Fungi of Brassica Rapa L.” *ACS Omega* 5(11):5939–50.
- Zhao, Jintong, Yujie Fu, Meng Luo, Yuangang Zu, Wei Wang, Chunjian Zhao, and Chengbo Gu. 2012. “Endophytic Fungi from Pigeon Pea [ Cajanus Cajan (L.) Millsp.] Produce Antioxidant Cajaninstilbene Acid.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(17):4314–19.

