

# Isolasi, Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Bunga Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Rani Aulia Suhanah<sup>1</sup>, Suryelita<sup>\*2</sup>, Melindra Mulia<sup>3</sup>

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

Jln. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang, Indonesia

\*[elthaheer@gmail.com](mailto:elthaheer@gmail.com)

**Abstract** — *Endophytic fungi are microorganisms that live in plant tissues without harming the host plant. One of the plants that have potential as a host for endophytic fungi is the flower of the bitter plant (Andrographis paniculata) which contained secondary metabolites and has biological activity. The purpose of this study was to obtain fungal isolates and identify the content of secondary metabolites and their antibacterial activity. The results of the isolation of endophytic fungi produced isolates of endophytic fungi with isolate code BS. Microscopic observation of BS isolates belonging to Chrysosporium spp. The results of the phytochemical test of the ethyl acetate extract were positive for terpenoid compounds marked with a pink color and the FTIR spectrum containing a dimethyl gem group. BS extract also could inhibit the growth of all tested bacteria, namely E. coli and S. aureus at concentrations of 1%, 3%, and 5%.*

**Keywords** — *Andrographis paniculata, Antibacterial, Endophytic Fungi*

## I. PENGANTAR

Resistensi bakteri terhadap obat-obatan belakangan ini merupakan salah satu permasalahan yang menyebabkan keterbatasan obat antimikroba [1]. Saat ini sumber senyawa bioaktif dapat berasal dari tumbuhan obat. Akan tetapi ketersediaan bahan baku obat-obatan yang berasal dari tumbuhan alami tersebut sumbernya semakin menipis sehingga perlu dicarikan penyelesaiannya. Upaya yang dapat dilakukan yaitu memanfaatkan jamur endofit yang berkolonisasi pada tumbuhan.

Jamur endofit adalah mikroorganisme yang tumbuh secara berkolonisasi dalam jaringan berbagai tumbuhan yang secara umum tidak merugikan tumbuhan inangnya. Tumbuhan inang dan jamur endofit mempunyai hubungan yang saling menguntungkan. Tumbuhan inang akan memberikan suplai nutrisi yang diperlukan jamur untuk pertumbuhannya. Sementara itu jamur akan memproduksi metabolit sekunder yang dapat digunakan tumbuhan inang sebagai perlindungan diri [2]. Berdasarkan hal tersebut, jamur endofit dapat berpotensi dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder, baik yang sama ataupun yang berbeda dengan tumbuhan inangnya [3]. Kelebihan dari jamur endofit adalah mudah dikembang biakkan dan mampu menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah yang besar [4].

Tumbuhan yang memiliki potensi sebagai inang bagi jamur endofit dalam memproduksi senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri adalah tumbuhan sambiloto (*A. paniculata*). Tumbuhan sambiloto memiliki habitat hidup di berbagai negara seperti China, India, Indonesia, Ayurveda, Thailand, Taiwan dan Malaysia [5]. Secara tradisional tumbuhan ini banyak digunakan sebagai obat, seperti mengatasi gangguan hati, keluhan pernafasan, flu dan

beberapa keluhan usus pada anak-anak [6]. Berdasarkan hal tersebut tujuan penelitian ini adalah mengisolasi jamur endofit, menganalisa kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri dari bunga tumbuhan sambiloto.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah cawan petri, pinset, pisau bedah, bunsen, inkubator, peralatan gelas, kertas saring, neraca analitik, *rotary evaporator*, *laminar air flow*, mikroskop dan FTIR.

### B. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, alkohol 70%, natrium hipoklorit, *Potato Dextrose Agar* (PDA), beras, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *methylen blue*, etil asetat, kloramfenikol, DMSO, HCl p.a, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, FCl<sub>3</sub> 1%, asam asetat glasial, reagen dragendorf, reagen mayer dan reagen wagner.

### C. Prosedur Penelitian

#### 1. Isolasi Jamur Endofit

Bunga sambiloto diperoleh dari Kelurahan Dadok Tunggal Hitam, kecamatan Koto Tangah. Bunga tumbuhan sambiloto dicuci dengan air yang bertujuan untuk membersihkan kotoran yang terdapat pada permukaan jaringan bunga. Kemudian disterilisasi permukaan menggunakan natrium hipoklorit (NaOCl) 3,5% selama 15 detik dan alkohol 70% selama 20 detik. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan mikroba epifit pada permukaan [7]. Bunga steril diambil dan ditempatkan pada media padat yaitu *Potato Dextrose*

Agar (PDA) sebagai kontrol negatif. Proses isolasi dilakukan dengan cara membelah jaringan bunga secara vertikal dan bagian dalam ditempelkan pada media padat PDA. Pemotongan jaringan tersebut bertujuan untuk memudahkan jamur endofitik berpindah dari dalam jaringan daun ke media padat PDA [8]. Kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 28° C. Setelah 5 hari, isolat jamur endofit di sub-kultur menggunakan jamur ose ke media padat lainnya hingga diperoleh isolat murni jamur endofit.

#### 2. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Jamur Endofit

Pengamatan secara makroskopis yaitu dengan mengamati ciri morfologi koloni jamur dari warna koloni, bentuk koloni dan warna permukaan sebaliknya. Pengamatan secara mikroskopis dianalisa dengan metode *Slide Culture (Riddel)*.

#### 3. Optimasi Waktu Kultivasi Optimum

Isolat murni jamur hasil dikultivasi dengan memindahkan 1×1 cm jamur dari media padat ke dalam 16 buah erlenmeyer yang berisi media beras. Empat erlenmeyer akan dipanen masing-masing setiap minggu selama 4 minggu. Penentuan waktu optimasi kultivasi jamur dilakukan dengan menganalisa massa ekstrak organik yang dihasilkan.

Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut etil asetat sebanyak 50 mL selama 3 hari. Kemudian ekstrak disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etil asetat. Ekstrak ini kemudian diuji kandungan metabolit sekunder, FTIR dan aktivitas antibakteri.

#### 4. Uji Fitokimia

##### *Steroid/Terpenoid*

Ekstrak yang diperoleh dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah amoniak-kloroform dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, kemudian dikocok, diamkan hingga terdapat lapisan atas dan lapisan. Lapisan bawah diambil dan dimasukkan ke plat tetes, kemudian didiamkan hingga menguap dan ditambahkan asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. Hasil positif steroid dinyatakan dengan warna hijau-biru dan terpenoid dinyatakan dengan warna merah [9].

##### *Alkaloid*

Lapisan asam pada uji steroid/terpenoid dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Secara berurutan hasil positif alkaloid adanya endapan coklat, endapan putih dan endapan jingga [9].

##### *Fenolik*

Ekstrak yang diperoleh diletakkan pada plat tetes, ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Positif fenolik ditandai dengan warna biru hitam [9].

#### 5. FTIR

Ekstrak dianalisa dengan FTIR dengan bilangan gelombang dimulai dari 400 hingga 4000 cm<sup>-1</sup>.

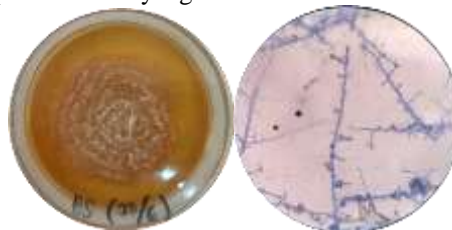
#### 6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas menggunakan metode difusi cakram untuk menentukan kemampuan ekstrak etil asetat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Suspensi bakteri uji digoreskan pada permukaan media MHA. Selanjutnya kertas cakram dengan konsentrasi ekstrak 1%, 3%, 5%, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (DMSO) diletakkan diatas media MHA. Cawan petri diinkubasi selama 1×24 jam (37°C). Zona hambat diamati dengan mengukur daerah bening disekitar kertas cakram.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Jamur Endofit

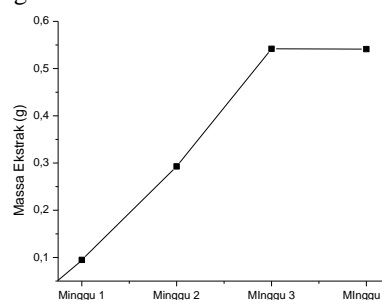
Pengamatan makroskopis isolat BS pada **Gambar 1(a)** memiliki koloni jamur berwarna putih, berbentuk melingkar dan warna permukaan sebaliknya berwarna putih.. Pengamatan mikroskopis isolat BS pada **Gambar 1(b)** memiliki spora dan hifa yang tidak bersekat.



**Gambar 1.** Isolat BS Jamur endofit (a) makroskopis dan (b) mikroskopis

#### B. Optimasi Waktu Kultivasi Optimum

Kurva waktu optimasi pertumbuhan isolat jamur BS dapat dilihat pada **Gambar 2**. Massa ekstrak yang diperoleh isolat BS pada empat minggu secara berturut-turut yaitu 0,0948, 0,2929, 0,5419 dan 0,5413 g. Kondisi optimum terjadi pada fase stationer didapatkan pada minggu ketiga dengan massa ekstrak 0,5419 g.



**Gambar 2.** Kurva Optimasi Kultivasi Isolat BS

#### C. Uji Fitokimia

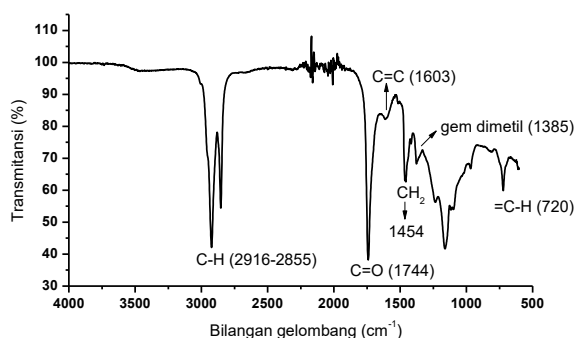
Hasil uji kandungan metabolit sekunder menunjukkan ekstrak etil asetat BS positif mengandung senyawa terpenoid, dapat dilihat pada **Tabel 1**. Pada uji terpenoid menggunakan pereaksi Lieberman-burchard. Identifikasi senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya endapan warna merah.

TABEL 1.  
HASIL UJI FITOKIMIA EKSTRAK ETIL ASETAT ISOLAT BS

No	Senyawa	Hasil
1.	Alkaloid	-
2.	Terpenoid	+
3.	Steroid	-
4.	Fenolik	-

Mekanisme reaksi terpenoid ialah terjadinya kondensasi, lepasnya H<sub>2</sub>O dan penggabungan karbokation. Tahap awal reaksi dimulai dengan gugus hidroksil yang mengalami asetilasi oleh asam asetat anhidrat sehingga membentuk ikatan rangkap. Kemudian ikatan rangkap berpindah yang terjadi akibat proses pelepasan dari gugus hidrogen beserta elektronnya. Senyawa akan beresonansi yang berperan sebagai elektrofil. Serangan karbokation ini membuat adanya adisi elektrofilik serta pelepasan hidrogen yang menyebabkan terjadinya perpanjangan konjugasi sehingga menimbulkan warna merah muda hingga ungu [10].

#### D. FTIR



Gambar 3. Spektra FTIR Ekstrak Etil Asetat Isolat BS

Hasil spektrum pada Gambar 3 menunjukkan serapan yang menunjukkan ciri-ciri senyawa triterpenoid berdasarkan hasil identifikasi gugus fungsi. Serapan bilangan gelombang 2916 cm<sup>-1</sup> dan 2855 cm<sup>-1</sup> yang merupakan vibrasi ulur C-H. Serta terdapat vibrasi tekuk C-H pada bilangan gelombang 1385 cm<sup>-1</sup> adanya gugus gem dimetil yang menjadi ciri khas senyawa triterpenoid. Serapan tersebut menandakan bahwa gugus gem dimetil dengan intensitas lemah. vibrasi C=O ditunjukkan pada serapan 1744 cm<sup>-1</sup>[11]. Adanya vibrasi C=C pada 1603 cm<sup>-1</sup>. Gugus =C-H siklik ditunjukkan pada 728 cm<sup>-1</sup>.

#### E. Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak etil asetat terhadap *S. aureus* memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 3% dan 5%. Sedangkan untuk bakteri *E. coli* terdapat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1%, 3% dan 5%. Hasil uji aktivitas antibakteriekstrak setil asetat BS dapat dilihat pada Tabel 2. Peningkatan konsentrasi ekstrak etil asetat berbanding lurus dengan besarnya diameter zona hambat. Apabila konsentrasi ekstrak yang digunakan semakin besar maka semakin bertambah pula kandungan senyawa aktif, sehingga semakin besar kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri[8].

TABEL 2.  
UJI AKTVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT ISOLAT BS

Bakteri Uji	Rata-rata diameter		zona hambat (mm) ± SD		
	(+)	(-)	1%	3%	5%
<i>E. coli</i>	14,40 ± 0,70	0	7,15 ± 0,25	8,85 ± 0,25	11,02 ± 0,72
<i>S. aureus</i>	12,38 ± 0,49	0	0 ± 0	6,41 ± 0,40	8,82 ± 0,60

Mekanisme ekstrak etil asetat BS dalam penghambatan bakteri yaitu adanya metabolit sekunder yang merusak dinding sel bakteri atau peningkatan permeabilitas dinding sel. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri dapat meningkatkan membran sitoplasmik dari bakteri. Senyawa terpenoid akan merusak protein transmembran (porin) yang terletak pada membran luar, sehingga sel akan mengalami kekurangan nutrisi dan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri[12][13].

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1) Jamur endofit dari jaringan bunga sambiloto telah berhasil diisolasi dengan kode isolat BS. Berdasarkan bentuk spora dan hifa secara mikroskopis isolat jamur BS mirip dengan *Chrysosporium spp*
- 2) Ekstrak etil asetat isolat jamur endofit BS jaringan bunga sambiloto positif mengandung senyawa terpenoid.
- 3) Ekstrak etil asetat isolat jamur endofit BS jaringan bunga sambiloto memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Riga, S.Pd, M.Si selaku dosen kimia organik dan rekan-rekan mahasiswa yang telah membantu dalam penulisan artikel ini. Serta seluruh analis Laboratorium Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Padang dan Laboratorium Kesehatan, Kota Padang atas semua bantuan dan dukungan selama penelitian berlangsung.

#### REFERENSI

- [1] Cendranata, M. Djamhari, and A. Endah, "Daya hambat ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap populasi bakteri pada ulser recurrent aphthous stomatitis," *Pdgi*, vol. 60, no. 1, pp. 20–23, 2011.
- [2] V. V. Hasiani, I. Ahmad, and L. Rijai, "Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.)," *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 1, no. 4, pp. 146–153, 2015, doi: 10.25026/jsk.v1i4.32.
- [3] R. X. Tan and W. X. Zou, "Endophytes: A rich source of functional metabolites," *Nat. Prod. Rep.*, vol. 18, no. 4, pp. 448–459, 2001, doi: 10.1039/b100918o.
- [4] N. L. dan D. A. C. R. Zulkifli Lalu, Dwi Soelistya Diah Jekti, "Isolasi Bakteri Endofit Dari Sea Grass Yang Tumbuh Di Kawasan Pantai Pulau Lombok Dan Potensinya Sebagai Sumber Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen," *J. Biol. Trop.*, vol. 16, no. 2, pp. 80–93,

- 2016, doi: 10.29303/jbt.v16i2.226.
- [5] A. R. Kumar, K. Sridevi, N. Vijaya Kumar, S. Nanduri, and S. Rajagopal, "Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 92, no. 2–3, pp. 291–295, 2004, doi: 10.1016/j.jep.2004.03.004.
- [6] W. W. Chao and B. F. Lin, "Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian)," *Chin. Med.*, vol. 5, pp. 1–15, 2010, doi: 10.1186/1749-8546-5-17.
- [7] V. A. Al Khairi *et al.*, "Study of The Antibacterial Activity of Endophytic Fungus That Colonize With The Twig of *Andrographis paniculata*," vol. 22, no. 02, pp. 137–144, 2021.
- [8] R. Riga and E. H. Hakim, "Aktivitas Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofitik *Colletotrichum gloeosporioides* yang Diisolasi dari Daun *Artocarpus heterophyllus*," vol. 10, no. 2, 2021.
- [9] A. Elita, S. Saryono, and J. Christine, "Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas sp.* dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*)," *J. Ind. Che Acta*, vol. 3, no. 2, pp. 56–62, 2011.
- [10] K. Siadi, "Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan NaCl," vol. 35, no. 1, 2012.
- [11] Y. Inatomi, I. Akira, H. Murata, N. Masatoshi, and N. Tsutomu, "Constituents of a Fern, *Diplazium subsinuatum*. III. Four New Hopane-Triterpene Lactone Glycosides," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 48, no. 12, pp. 1930–1934, 2000.
- [12] R. Rosalina, R. S. Ningrum, P. A. Lukis, F. Sains, F. Farmasi, and F. K. Gigi, "Aktifitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Mangga Podang (*Mangifera indica L.*) Asal Kabupaten Kediri Jawa Timur," *Maj. Ilm. Biol. Biosf. A Sci. J.*, vol. 35, no. 3, pp. 139–144, 2018, doi: 10.20884/1.mib.2018.35.3.757.
- [13] Y. Retnowati, N. Bialangi, and N. W. Posangi, "Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)," vol. 6, no. 2, 2011.