

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR ENDOFITIK RS-2 YANG DIISOLASI DARI
TUMBUHAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)**

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGUS RS-2 ISOLATED FROM
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)***

Riga Riga^{1*}, Suryelita², Sri Benti Etika³, Rani Aulia Suhanah⁴, Varel Anshar Al Khairi⁵

¹²³⁴⁵Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang,
Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Padang 25132

*e-mail korespondensi: rigakimia@fmipa.unp.ac.id

Abstrak

Andrographis paniculata yang dikenal dengan tumbuhan sambiloto dilaporkan menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri. Potensi senyawa antibakteri dari tumbuhan ini dapat dikaji lebih lanjut dari jamur yang berasosiasi dengan tumbuhan sambiloto. Tujuan dari studi ini adalah menganalisis potensi jamur endofitik yang berasosiasi dengan ranting tumbuhan sambiloto. Hasil inokulasi terhadap tumbuhan sambiloto menghasilkan jamur endofitik dengan kode RS-2. Uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak jamur RS-2 mengindikasikan bahwa jamur RS-2 mampu menghambat pertumbuhan dua bakteri uji dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Studi lebih lanjut terkait senyawa bioaktif yang berkontribusi dalam aktivitas antibakteri jamur RS-2 perlu dilanjutkan.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, antibakteri, jamur endofitik, RS-2

Abstract

Andrographis paniculata known as Sambiloto reportedly produces a variety of secondary metabolites with anti-bacterial activity. The potential of antibacterial compounds from this plant can be studied further from endophytic fungus associated with sambiloto. The aim of the study was to analyze the potential of endophytic fungi associated with the twigs of the sambiloto. Inoculation of sambiloto yielded endophytic fungi with the code RS-2. An anti-bacterial activity test against RS-2 fungal extract indicates that RS-2 fungus is able to inhibit the growth of two test bacteria with concentrations of 1%, 3%, and 5%. Further studies of bioactive compounds that contribute to RS-2 fungal anti-bacterial activity need to continue.

Keywords: *Andrographis paniculata*, anti bacteri, endophytic fungus, RS-2

PENDAHULUAN

Pada tahun 2019 WHO merilis data terkait beragam ancaman kesehatan dalam satu dekade terakhir. Salah satu ancaman kesehatan tersebut adalah resistensi bakteri terhadap berbagai antibiotik yang ada. Fenomena ini menjadi fokus penelitian di berbagai belahan dunia untuk menemukan beragam senyawa bioaktif sebagai *lead compound* untuk antibakteri (Wang *et al.*, 2018; Windels *et al.*, 2019). Salah satu tumbuhan obat yang banyak dilaporkan memproduksi beragam metabolit sekunder

dengan aktivitas antibakteri adalah *Andrographis paniculata*.

Tanaman *A. paniculata* juga dikenal dengan nama sambiloto atau empedu tanah merupakan salah satu genus tumbuhan yang penting dari famili *Achantaceae*. Berbagai jaringan tumbuhan ini telah banyak digunakan secara tradisional untuk mengobati bermacam-macam penyakit seperti masuk angin, radang amandel, radang usus besar dan demam (Suhanah *et al.*, 2021; Silalahi, 2020). Kajian fitokimia terhadap berbagai jaringan tumbuhan *A. paniculata* (sambiloto) menunjukkan bahwa

metabolit sekunder yang pernah diisolasi dari tumbuhan ini antara lain senyawa fenolik dan non fenolik (Chao & Lin, 2010; Gajalakshmi *et al.*, 2012; Jeeva, 2014). Metabolit sekunder hasil isolasi tersebut juga dilaporkan mempunyai beragam bioaktivitas, termasuk antibakteri (Singha *et al.*, 2003). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan *A. paniculata* memiliki potensi besar sebagai sumber *lead compound* antibiotik. Selain dari tumbuhannya, senyawa bioaktif dari *A. paniculata* juga dapat diperoleh dari jamur endofitiknya.

Jamur endofitik secara umum dapat didefinisikan sebagai jamur yang hidup dalam berbagai jaringan tumbuhan. Jamur endofitik dilaporkan memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan tumbuhan inangnya (Riga *et al.*, 2019a, 2019b; 2019c). Jamur endofitik akan memproduksi berbagai senyawa bioaktif untuk memberikan perlindungan atau proteksi bagi tumbuhan inangnya. Beragam senyawa yang pernah diisolasi dari jamur endofitik antara lain senyawa golongan non fenolik (terpenoid, steroid) dan fenolik (alkaloid, antrakuinon). Senyawa tersebut juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri (Liu *et al.*, 2008).

Riset tentang kajian biologi dari jamur endofitik yang berasosiasi dengan batang, akar, bunga dan daun tumbuhan tumbuhan *A. paniculata* telah pernah dilaporkan sebelumnya. Lebih lanjut, penelitian tentang kajian fitokimia dan sifat antibakteri dari jamur endofitik yang diisolasi dari daun dan bunga tumbuhan *A. paniculata* juga telah pernah dilaporkan (Suhanah *et al.*, 2021; Suryelita *et al.*, 2021). Hasil penelitian tersebut dijadikan dasar dalam melakukan riset lebih lanjut terkait sifat antibakteri dari ekstrak organik jamur endofitik yang berasosiasi dengan ranting tumbuhan *A. paniculata*. Berdasarkan hal tersebut, riset ini akan menggali potensi terkait kandungan metabolit sekunder dari jamur endofitik yang berasal dari ranting tumbuhan *A. paniculata* dan berpotensi dimanfaatkan sebagai *lead compound* antibakteri.

METODE PENELITIAN

Inokulasi Jamur Endofitik

Tumbuhan *A. paniculata* diperoleh dari Tabing Banda Gadang, Padang, Indonesia. Ranting segar tumbuhan *A. paniculata* dipotong menjadi berukuran 2x2 cm dan kemudian dialiri dengan air bersih. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendamnya dalam larutan etanol 70% (45 detik) dan larutan NaOCl 3,5%

(30 detik). Ranting yang telah steril kemudian ditempelkan pada media padat PDA sebagai kontrol negatif. Ranting selanjutnya dipotong (1x1 cm) dan diinokulasi di atas media padat PDA dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7 hari. Jamur endofitik yang tumbuh dipindahkan ke media PDA lainnya sehingga diperoleh isolat tunggal jamur endofitik.

Identifikasi Mikroskopik Jamur Endofitik

Isolat tunggal jamur hasil isolasi ini kemudian diidentifikasi secara mikroskopis melalui metode pewarnaan. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan melakukan pewarnaan jamur endofit menggunakan metode *slide culture*. Metode ini digunakan untuk mempermudah dalam melihat ciri-ciri mikroskopis dari jamur sehingga jamur lebih mudah dapat teridentifikasi.

Optimasi Waktu Kultivasi Jamur Endofitik

Waktu kultivasi isolat tunggal jamur endofitik dalam memproduksi metabolit sekunder dilakukan optimasi. Jamur endofitik (2x2 cm) dari media padat dipindahkan ke dalam sembilan media beras pada Erlenmeyer 250 mL. Tiga erlenmeyer pada minggu kedua, ketiga dan keempat dipanen dan diekstraksi dengan pelarut etil asetat hasil destilasi sehingga didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat dianalisis berdasarkan massa yang diperoleh untuk menentukan waktu kultivasi optimumnya.

Kultivasi Jamur Endofitik

Kultivasi terhadap isolat tunggal jamur dilakukan dalam Erlenmeyer yang berisi 100 mL media beras dan kemudian diinkubasi pada suhu 28 °C selama waktu kultivasi optimumnya. Kemudian kultivar jamur endofitik diekstraksi padat-cair dengan etil asetat sebanyak tiga kali sehingga diperoleh ekstrak pekat EtOAc. Ekstrak pekat EtOAc ini kemudian digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dan uji kandungan metabolit sekunder.

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak pekat jamur endofitik diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi cakram (Suryelita *et al.*, 2021). Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. 20 µL ekstrak pekat pada berbagai 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.

Uji Kandungan Metabolit Sekunder

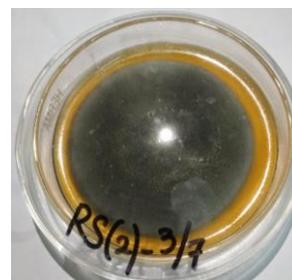
Uji kandungan metabolit sekunder yang meliputi terpenoid/steroid, alkaloid dan senyawa fenolik dilakukan terhadap ekstrak pekat jamur endofitik yang diisolasi dari ranting *A. paniculata*. Metode yang digunakan untuk uji fitokimia mengikuti prosedur yang telah dilaporkan sebelumnya (Suryelita *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi sifat antibakteri jamur yang diisolasi dari ranting tumbuhan *A. paniculata* (sambiloto). Selama ini, tumbuhan *A. paniculata* telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Kajian etnobotani inilah yang menjadi dasar pemilihan sampel tumbuhan inang pada penelitian ini. Analisis ini didukung oleh data kemampuan tumbuhan sebagai obat-obatan dipengaruhi oleh kapasitasnya dalam memproduksi senyawa biokatif (Jarukamjorn & Nemoto, 2008). Kajian tentang aktivitas ekstrak organik dan senyawa murni dari jamur endofitik yang berasosiasi dalam berbagai tumbuhan inang telah banyak dilaporkan. Meskipun demikian, penelitian terkait sifat antibakteri dari jamur endofitik yang diisolasi dari ranting *A. paniculata* masih sangat terbatas.

Tahapan awal dalam riset ini yaitu inokulasi jamur endofitik dari ranting tumbuhan *A. paniculata*. Ranting *A. paniculata* dicuci dengan air mengalir untuk mengeliminasi pengotor yang terdapat di permukaan rantingnya. Mikroba epifit permukaan ranting *A. paniculata* dihilangkan melalui proses sterilisasi menggunakan etanol 70% dan NaOCl 3,5%. Tahapan ini bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa jamur yang tumbuh pada media PDA adalah jamur endofitik atau jamur yang berasal dari jaringan dalam ranting *A. paniculata*. Ranting steril selanjutnya diinokulasi di permukaan media PDA yang telah ditambahkan antibiotik. Penambahan antibiotik bertujuan untuk mengeliminasi bakteri endofitik yang berasal dari jaringan tumbuhan yang sama. Cawan petri kemudian diinkubasi selama tujuh hari dan jamur yang hidup dipindahkan ke media agar PDA lainnya dan didapatkan dua isolat tunggal jamur endofitik.

(kode RS-2) dipilih untuk dilanjutkan pada proses berikutnya berdasarkan pengamatan morfologi jamur yang meliputi bentuk dan warna koloni (Gupta *et al.*, 2020).



Gambar 1. Jamur RS-2

Warna koloni dari isolat jamur RS-2 (Gambar 1) adalah hijau tua. Sedangkan bentuk koloni dari jamur RS-2 adalah bulat dan membentuk koloni yang memusat. Jamur dengan morfologi makroskopik seperti jamur RS-2 belum pernah dilaporkan dari tumbuhan *A. paniculata*. Isolat tunggal hasil isolasi ini kemudian diidentifikasi secara mikroskopis melalui metode pewarnaan di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Padang. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan melakukan pewarnaan jamur endofitik menggunakan metode *slide culture*. Metode ini digunakan untuk mempermudah dalam melihat ciri-ciri mikroskopis dari jamur sehingga jamur lebih mudah dapat teridentifikasi. Secara mikroskopis isolat RS-2 memiliki ciri-ciri hifa bercabang dan berwarna biru setelah dilakukan pewarnaan dengan methylene blue (Gambar 2).

Jamur RS-2 kemudian dikultivasi skala kecil untuk menentukan waktu kultivasi optimum jamur dalam menghasilkan metabolit sekunder. Massa ekstrak etil asetat jamur RS-2 pada minggu kedua, ketiga dan keempat dianalisis untuk mengetahui waktu kultivasi optimumnya. Metabolit sekunder akan dihasilkan oleh jamur endofitik pada tahap stasioner. Pada tahap ini terjadi keseimbangan antara kecepatan pertumbuhan dan kematian sel. Tahap stasioner suatu jamur akan terjadi saat nutrisi pada media pertumbuhan menipis. Kondisi ini mengakibatkan enzim-enzim yang berkontribusi dalam menghasilkan senyawa akan terakumulasi sehingga kuantitas senyawa akan semakin banyak (Manoharachary & Nagaraju, 2016). Tabel 1 terkait ekstrak jamur RS-2 pada berbagai minggu kultivasi menunjukkan bahwa perbedaan massa ekstrak pada minggu dua, tiga dan empat tidak

mengalami perubahan yang cukup signifikan sehingga dapat dinyatakan bahwa minggu kedua adalah fase stasioner dari jamur tersebut. Hasil ini mengindikasikan bahwa waktu kultivasi optimum jamur RS-2 adalah dua minggu.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Jamur RS-2

Berdasarkan data tersebut, jamur RS-2 kemudian dikultivasi skala besar ke dalam 15 Erlenmeyer yang berisi media beras. Kultivasi skala besar ini bertujuan untuk memperoleh massa ekstrak dalam kuantitas yang lebih banyak. Hasil ekstraksi jamur RS-2 setelah dikultivasi selama dua minggu dipekatkan untuk menghasilkan ekstrak pekat EtOAc. Ekstrak pekat EtOAc jamur RS-2 tersebut selanjutnya diuji sifat antibakterinya. Dua bakteri uji yang digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri jamur RS-2 adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstrak jamur RS-2 yang digunakan terdiri dari tiga variasi konsentrasi, yaitu 1%, 3% dan 5%. Adapun kontrol positif yang digunakan pada uji antibakteri ini adalah amoksilin. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan secara triplo dan hasil uji dinyatakan sebagai zona hambat yang ditampilkan pada Tabel 2.

Uji aktivitas penghambatan antibakteri menunjukkan bahwa diameter zona hambat ekstrak terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus*) lebih kuat dibandingkan terhadap bakteri Gram negatif (*E. coli*). Hasil ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan mengakibatkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel (Singha *et al.*, 2003).

Tabel 1. Optimasi Kultivasi Jamur Endofitik

Jamur	Minggu		
	2	3	4
RS-2	25,3 mg	24,6 mg	24,0 mg

Tabel 2 tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak EtOAc jamur RS-2 yang diperoleh dari

ranting *A. paniculata* mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Zona hambat pada tabel 2 juga mengindikasikan bahwa kemampuan antibakteri ekstrak jamur RS-2 berkorelasi positif dengan konsentrasi ekstrak tersebut. Fakta ini dipengaruhi oleh jumlah senyawa aktif dalam ekstrak yang juga semakin banyak.

Tabel 2. Data Zona Hambat Ekstrak EtOAc

Konsentrasi	Bakteri Uji	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1%	3,67 ± 0,58	3,67 ± 1,15
3%	4,00 ± 0	6,00 ± 2,65
5%	5,67 ± 0,58	7,33 ± 1,53
Kontrol (+)	10,67 ± 0,58	11,33 ± 0,58

Aktivitas antibakteri dari ekstrak EtOAc jamur RS-2 menunjukkan kehadiran metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi. Berdasarkan hal tersebut, ekstrak EtOAc jamur RS-2 diuji kandungan metabolit sekunder (alkaloid, terpenoid, steroid, dan fenolik). Hasil uji fitokimia ekstrak EtOAc jamur RS-2 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji kandungan metabolit sekunder ekstrak EtOAc jamur RS-2

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

Senyawa golongan alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Sementara itu, mekanisme senyawa terpenoid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu sintesis membran atau dinding sel sehingga dinding atau membran sel tidak akan terbentuk dengan optimal. Sifat antibakteri senyawa fenolik didukung oleh faktor lipofilisitas, sifat elektronik dan muatan polifenol yang dapat menghambat kerja enzim reverse transkripsi dan DNA topoisomerase (Suhanah *et al.*, 2021). Riset tentang metabolit sekunder yang berkontribusi dalam sifat antibakteri pada jamur RS-2 perlu dilakukan secara komprehensif di masa depan sehingga dapat memperoleh senyawa yang dapat berperan sebagai *lead compound* antibakteri.

KESIMPULAN

Aktivitas antibakteri dari ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-2 yang berasosiasi dengan ranting *A. paniculata* menunjukkan hasil yang

positif terhadap dua bakteri uji, yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini mengindikasikan bahwa jamur RS-2 memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai *lead compound* antibakteri.

DAFTAR RUJUKAN

- Chao, W. W., & Lin, B. F. (2010). Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chinese Medicine*, 5, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-17>
- Gajalakshmi, S., Iswarya, V., Ashwini, R., Bhuvaneshwari, M., Mythili, S., & Sathivelu, A. (2012). *Secondary metabolite production by Endophytic Fungi isolated from Andrographis paniculata*. 5(3), 12–17.
- Gupta, S., Chaturvedi, P., Kulkarni, M. G., & Van Staden, J. (2020). A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. *Biotechnology Advances*, 39, 107462. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107462>
- Jarukamjorn, K., & Nemoto, N. (2008). Pharmacological aspects of *Andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constituent andrographolide. *Journal of Health Science*, 54(4), 370–381. <https://doi.org/10.1248/jhs.54.370>
- Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X., & Zhou, J. (2008). Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(2), 241–247. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1305-1>
- Manoharachary, C., & Nagaraju, D. (2016). Endophytic hyphomycetous fungi associated with some medicinal plants from Telangana state, India. *Indian Phytopathology*, 69(2), 169–172.
- Riga, R., Happyana, N., & Hakim, E. H. (2019a). Chemical Constituents of *Pestalotiopsis microspora* HF 12440. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(1). <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90116>
- Riga, R., Happyana, N., & Hakim, E. H. (2019b). Sesquiterpenes produced by *Pestalotiopsis microspora* HF 12440 isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Natural Product Research*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1578764>
- Riga, R., Happyana, N., Quentmeier, A., Zammarelli, C., Kayser, O., & Hakim, E. H. (2019c). Secondary metabolites from *Diaporthe lithocarpus* isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Natural Product Research*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672685>
- Riga, R., Aulia Suhanah, R., Suryelita, S., Benti Etika, S., & Ulfah, M. (2021). Jamur Endofitik Yang Diisolasi Dari Bunga *Andrographis Paniculata* (Sambiloto) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 139–148. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.664>
- Silalahi, M. (2020). *Sambiroto (Andrographis paniculata) dan Bioaktivitasnya*. 3(1), 2614–8064.
- Singha, P. K., Roy, S., & Dey, S. (2003). Antimicrobial activity of *Andrographis paniculata*. *Fitoterapia*, 74(7–8), 692–694. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00159-X](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00159-X)
- Solomon Jeeva, J. J. (2014). *Andrographis paniculata*: A Review of its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Medicinal & Aromatic Plants*, 03(04). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000169>
- Suhanah, R., Suryelita, S., Etika, S. B., Ulfah, M., & Riga, R. (2021). Jamur Endofitik yang Diisolasi dari Bunga *Andrographis Paniculata* (Sambiloto) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 139–48. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.664>
- Suryelita, S., Riga, R., Etika, S. B., Ulfah, M., & Artasasta, M. A. (2021). *Antibacterial Screening of Endophytic Fungus Xylaria sp. derived from Andrographis paniculata (Sambiloto)*. 9, 971–975.
- Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Aslam, M. A., & Qamar, M. U. (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance*, 1645–1658.
- Windels, E. M., Michiels, J. E., van den Bergh, B., Fauvart, M., & Michiels, J. (2019). Antibiotics: Combatting tolerance to stop resistance. *MBio*, 10(5), 1–7. <https://doi.org/10.1128/mBio.02095-19>