

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR ENDOFITIK RS-1
DARI TUMBUHAN *ANDROGRAPHIS PANICULATA* MENGGUNAKAN MEDIA
BERAS HITAM**

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE ETHYL ACETATE EXTRACT OF ENDOPHYTIC
FUNGUS RS-1 FROM ANDROGRAPHIS PANICULATA USING BLACK RICE MEDIA***

Salsabila Safitri¹, Sri Benti Etika², Riga Riga^{3*}

^{1,2,3}Departemen 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

Tumbuhan *Andrographis paniculata* menghasilkan beragam metabolit sekunder yang memiliki berbagai aktivitas biologis termasuk antibakteri. Senyawa antibakteri pada tumbuhan ini juga dapat dieksplorasi dari jamur endofitik yang berasosiasi dengan tumbuhan *A. paniculata*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri jamur endofitik RS-1 dari ranting tumbuhan *A. paniculata* menggunakan media beras hitam. Tahapan penelitian terdiri dari isolasi, kultivasi, ekstraksi, uji antibakteri dan uji kandungan metabolit sekunder dari jamur endofitik pada ranting tumbuhan *A. paniculata*. Uji efektivitas aktivitas antibakteri terhadap ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 menunjukkan bahwa ekstrak jamur RS-1 pada media beras hitam mampu menghambat pertumbuhan tiga bakteri uji pada konsentrasi 1%, 3% dan 5%. Ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 dari tumbuhan *A. paniculata* menggunakan media beras hitam mempunyai potensi sebagai sumber senyawa antibakteri.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, antibakteri, beras hitam, jamur endofitik, RS-1

Abstract

Andrographis paniculata is reported to produce a variety of secondary metabolites that have various biological activities including antibacterial. Antibacterial compounds in this plant can be also explored from endophytic fungus associated with *A. paniculata*. The aim of study was to determine the effectiveness of antibacterial activity of the endophytic fungus RS-1 from the twigs of *A. paniculata* using black rice media. The steps of this research were isolation, cultivation, extraction, antibacterial test, and secondary metabolite content test of endophytic fungus from the twigs of the *A. paniculata*. The effectiveness test of antibacterial activity of the EtOAc extract of the endophytic fungus RS-1 showed that the ethyl acetate extract of RS-1 fungal using black redia media was able to inhibit the growth of three tested bacteria at concentration of 1%, 3%, and 5%. The EtOAc extract of endophytic fungus from *A. paniculata* using black rice media has potential as source of antibacterial.

Keywords: *Andrographis paniculata*, antibacterial, black rice, endophytic fungus, RS-1

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik yang berlebihan dalam bidang kesehatan merupakan salah satu penyebab terjadinya resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri

tumbuh dan beradaptasi dengan kehadiran antibiotik. Kemampuan beradaptasi untuk kelangsungan hidup bakteri muncul sebagai ancaman bagi dunia kesehatan. Selain penggunaan antibiotik yang berlebihan,

penyebab terjadinya resistensi antibiotik yaitu persebaran antibiotik yang tidak tepat dan ketersediaan antibiotik baru (Yadav & Kapley, 2021; Iwu *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut, pencarian sumber alternatif yang dapat menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri perlu dilakukan. salah satu sumber yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang potensial adalah jamur endofitik.

Jamur endofitik adalah mikroorganisme yang berkolonisasi pada jaringan internal tumbuhan tanpa merusak tanaman inangnya. Interaksi antara jamur endofitik dan tanaman inangnya merupakan simbiosis mutualisme, karena jamur endofitik membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan memberikan perlindungan tanaman. Sedangkan tanaman inangnya memberikan nutrisi untuk pertumbuhan jamur endofitik (Manganyi & Ateba, 2020; Riga *et al.*, 2022). Jamur endofitik dalam jaringan internal mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama bahkan berbeda dengan tanaman inangnya antara lain seperti terpenoid, steroid, alkaloid, senyawa fenolik dengan beragam aktivitas biologis (Wang *et al.*, 2018).

Tumbuhan yang memiliki potensi sebagai inang bagi jamur endofitik dalam menghasilkan senyawa bioaktif adalah tumbuhan sambiloto yang memiliki nama latin *Andrographis paniculata*. Tumbuhan *A. paniculata* banyak digunakan sebagai obat tradisional yang mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti demam, pilek, dan diabetes (Sanower Hossain *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2020). Bagian dari *A. paniculata* seperti akar, batang, daun dan bunga telah dimanfaatkan sebagai obat karena mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antii-inflamasi, antikanker, antioksidan, dan antivirus (Singh *et al.*, 2017; Munawar *et al.*, 2015).

Penelitian tentang kajian fitokimia dan sifat antibakteri dari jamur endofitik pada ranting tumbuhan *A. paniculata* menggunakan media beras putih telah pernah dilaporkan sebelumnya (Anshar *et al.*, 2021; Suryelita *et al.*, 2021; Riga *et al.*, 2022). Studi terkait antibakteri dari jamur endofitik yang berasosiasi pada bagian ranting tumbuhan *A. paniculata* menggunakan media beras hitam baru pertama kali dilaporkan pada penelitian ini. Berdasarkan hal tersebut. Penelitian ini bertujuan menggali potensi jamur endofitik yang berasosiasi dalam jaringan internal ranting tumbuhan *A. paniculata*

menggunakan media beras hitam sebagai sumber senyawa antibakteri.

METODE PENELITIAN

Inokulasi Jamur Endofitik

Tumbuhan *A. paniculata* diperoleh dari Tabing Banda Gadang, Kecamatan Nanggalo, Kota Padang. Bagian ranting segar *A. paniculata* berukuran 2x2 cm dibersihkan dengan air bersih mengalir. Selanjutnya, permukaan ranting dilakukan sterilisasi dengan merendam ranting dalam larutan etanol 70% selama 45 detik dan larutan NaOCl 3,5% selama 30 detik. Sterilisasi bertujuan untuk membunuh mikroba epifit yang terdapat dipermukaan ranting tumbuhan *A. paniculata*. Bagian ranting yang telah steril ditempelkan pada media padat PDA sebagai kontrol negatif. Ranting *A. paniculata* dipotong dengan ukuran 1x1 cm dan diinokulasikan di atas media PDA kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C. Jamur endofitik yang tumbuh pada media di sub-kultur ke media PDA lainnya sehingga diperoleh isolat tunggal jamur endofitik.

Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofitik

Isolat tunggal jamur endofitik dari media PDA dikultivasi ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 ml media beras hitam dan diinkubasi pada suhu 28°C. Setelah waktu kultivasi optimum, fermentasi jamur endofitik dipanen kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak tiga kali sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat. Hasil ekstrak pekat etil asetat dilakukan uji efektivitas aktivitas antibakteri dan uji fitokimia.

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak pekat etil asetat dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Alat yang digunakan pada tahap ini yaitu autoclave, laminar, cawan petri, gelas ukur, kertas cakram, dan jarum ose. Semua alat disterilisasi terlebih dahulu. Bahan yang digunakan antara lain media MHA, aquades, DMSO.

Bakteri uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*. Sebanyak 20 µL ekstrak pekat dengan berbagai konsentrasi yaitu 1%, 3%, dan 5% (pelarut: DMSO). Kontrol positif dan negatif diteteskan pada kertas cakram yang terletak diatas inokulan masing-masing bakteri uji. Kontrol positif yang digunakan yaitu amoksilin.

Setelah siinkubasi 1x24 jam, aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak diukur dan dinyatakan dalam zona hambat. Proses uji dilakukan kondisi aseptik dan aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak triplo.

Uji Kandungan Metabolit Sekunder Terpenoid dan Steroid

Ekstrak jamur endofitik RS-1 dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing tabung ditambahkan amoniak-kloroform dan H_2SO_4 2 N kemudian dikocok kuat dan didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah yang terbentuk diambil dan dipindahkan pada plat tetes, biarkan hingga pelarut menguap kemudian ditetaskan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 p.a. Terbentuknya warna merah menunjukkan positif terpenoid dan biru-kehijauan menunjukkan positif steroid.

Alkaloid

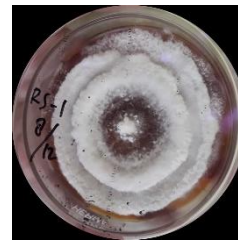
Lapisan atas pada uji terpenoid dan steroid dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi berbeda. Masing-masing tabung reaksi secara berurutan ditambahkan reagen wagner, mayer dan dragendorf. Hasil positif alkaloid terbentuknya endapan jingga, endapan putih dan endapan coklat.

Senyawa Fenolik

Ekstrak jamur endofitik RS-1 dimasukkan ke dalam plat tetes, lalu tambahkan $FeCl_3$ 1%. Perubahan warna merah muda menunjukkan positif senyawa fenolik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ranting *A. paniculata* yang telah steril diinokulasikan pada media padat PDA yang telah ditambahkan antibiotik. Penambahan antibiotik ini berfungsi untuk membunuh bakteri yang terdapat dalam jaringan ranting tumbuhan. Jamur endofitik yang tumbuh pada media PDA setelah 7 hari kemudian di sub-kultur ke media lainnya sehingga menghasilkan dua isolat tunggal jamur endofitik. Jamur endofitik dengan kode RS-1 dipilih untuk dilanjutkan pada proses selanjutnya berdasarkan pengamatan morfologi jamur endofitik RS-1.



Gambar 1. Morfologi jamur endofitik RS-1

Bentuk jamur endofitik RS-1 seperti yang terlihat pada Gambar 1, memiliki ciri makroskopik antara lain koloni berwarna putih, berbentuk bulat, dan membentuk koloni yang memusat. Permukaan koloni jamur endofitik RS-1 cukup kasar dan tersebar tipis merata ke seluruh permukaan media. Permukaan bagian bawah jamur endofitik RS-1 juga membentuk koloni berwarna putih (Calvo et al., 2002). Jamur endofitik RS-1 dengan morfologi makroskopik tersebut belum pernah dilaporkan dari ranting tumbuhan *A. paniculata*.

Jamur endofitik RS-1 dikultivasi pada erlenmeyer 250 ml yang berisi media beras hitam. Kultivasi dilakukan pada 25 erlenmeyer untuk memperoleh ekstrak dalam jumlah yang besar. Kemudian dipanen setelah mencapai waktu optimum dan diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak yang diperoleh lalu dipekatkan sehingga didapatkan ekstrak pekat etil asetat. Ekstrak EtOAc tersebut dilanjutkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram (Riga et al., 2019).

Tahapan uji aktivitas antibakteri ekstrak EtOAc dilakukan terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes* dengan memvariasikan konsentrasi ekstrak jamur RS-1 dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Adapun kontrol positif yang digunakan adalah amoksilin (Riga & Hakim, 2021). Hasil uji aktivitas antibakteri dinyatakan dalam zona hambat yang dilakukan secara triplo seperti yang ditampilkan pada Tabel 1.

Data zona hambat pada Tabel 1 mengindikasikan ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 yang tumbuh pada media beras hitam memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan terhadap ketiga bakteri uji. Konsentrasi ekstrak yang tinggi berkorelasi positif dengan kemampuannya sebagai antibakteri. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa aktif dalam ekstrak semakin banyak. Peningkatan senyawa aktif menyebabkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji juga

semakin meningkat (Riga & Hakim, 2021). Data zona hambat jamur RS-1 pada media pertumbuhan media beras hitam terhadap bakteri uji yang sama lebih besar dibandingkan media beras putih.

Tabel 1. Data zona hambat ekstrak EtOAc

Bakteri uji	Diameter Zona Hambat*			
	1%	3%	5%	Kontrol (+)
<i>E. coli</i>	6,57 ± 0,25	9,57 ± 0,32	11,83 ± 0,15	14,37 ± 0,21
<i>S. aureus</i>	0	7,67 ± 0,06	9,37 ± 0,11	13,27 ± 0,21
<i>S. pyogenes</i>	0	8,3 ± 0,17	9,67 ± 0,06	10,9 ± 0,26

*Zona hambat ± standar deviasi

Hasil aktivitas antibakteri dari ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Ekstrak EtOAc tersebut juga dilakukan uji kandungan metabolit sekunder antara lain, terpenoid, steroid, alkaloid, dan senyawa fenolik. Senyawa golongan terpenoid dan steroid termasuk ke dalam senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja yaitu mengganggu proses pembentukan membran sel. Hal ini menyebabkan membran sel tersebut tidak akan terbentuk secara sempurna. Sedangkan senyawa golongan alkaloid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak susunan komponen peptidoglikan pada sel bakteri (Kurniawan & Aryana, 2015). Sifat antibakteri dari senyawa fenolik dipengaruhi oleh lipofilisitas, sifat elektronik dan muatan felifenol yang dapat menghambat sistem kerja enzim reverse transkripsi dan DNA topoisomerase (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019; Kursia *et al.*, 2018).

Tabel 2. Hasil uji kandungan metabolit sekunder ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1

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

Hasil uji kandungan metabolit sekunder ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 disajikan pada Tabel 2. Penelitian terkait uji metabolit sekunder yang berperan sebagai aktivitas antibakteri pada ekstrak jamur endofitik RS-1 perlu dilanjutkan sehingga dapat melengkapi informasi terkait senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dari ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1.

KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak EtOAc jamur endofitik RS-1 yang berasosiasi pada tumbuhan *A. paniculata* menggunakan media beras hitam terhadap bakteri uji yaitu *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. pyogenes* memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

DAFTAR RUJUKAN

- Anshar, V., Khairi, A., Etika, S. B., Ulfah, M., Riga, R., Info, A., Sciences, N., & Padang, U. N. (2021). *Study of The Antibacterial Activity of Endophytic Fungus That Colonize With The Twig of Andrographis paniculata*. 21(02), 137–144.
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P., & Bordes, C. (2019). Antibacterial properties of polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative structure-activity relationship) models. *Frontiers in Microbiology*, 10(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00829>
- Calvo, A. M., Wilson, R. A., Bok, J. W., & Keller, N. P. (2002). Investigating the over sporulation effect of *A. fumigatus* induced by *P. aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 51. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.447>
- Iwu, C. D., Korsten, L., & Okoh, A. I. (2020). The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: A concern for public health. *MicrobiologyOpen*, 9(9), 1–28. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1035>
- Kurniawan, B., & Aryana, W. (2015). Binahong (*Cassia Alata* L.) For Inhibiting The Growth of Bacteria *Escherichia coli*. *J Majority*, 4(4), 100–104.
- Kursia, S., Aksa, R., & Nolo, M. M. (2018). Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan*

- Kesehatan*, 4(1), 30–33. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4631>
- Manganyi, M. C., & Ateba, C. N. (2020). Untapped potentials of endophytic fungi: A review of novel bioactive compounds with biological applications. *Microorganisms*, 8(12), 1–25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121934>
- Munawar, M., Muharni, M., & Ivantri, I. (2015). Chemical Constituent from an Endophytic Fungus *Aspergillus* sp (SbD5) Isolated from Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Microbiology Indonesia*, 9(2), 82–88. <https://doi.org/10.5454/mi.9.2.5>
- Riga, R., & Hakim, E. H. (2021). Aktivitas Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofitik *Colletotrichum gloeosporioides*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(2), 193–198.
- Riga, R., Happyana, N., Quentmeier, A., Zammarelli, C., Kayser, O., & Hakim, E. H. (2021). Secondary metabolites from *Diaporthe lithocarpus* isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Natural Product Research*, 35(14), 2324–2328.
- Riga, R., Suryelita, S., Etika, S. B., Suhanah, R. A., & Khairi, V. A. (2022). Aktivitas Antibakteri Jamur Endofitik R-2 yang Diisolasi Dari Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Zarah*, 10(1), 1–5.
- Sanower Hossain, M., Urbi, Z., Sule, A., & Hafizur Rahman, K. M. (2014). A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–28.
- Singh, A., Maqsood Ahamad Khan, M., Sahu, D., Vishwakarma, N., Yadav, A., Nath Singh, A., & Anurag Singh, C. (2017). Pharmacological and Anti-bacterial Activities of the leaves of *Andrographis paniculata* Nees. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 418–420.
- 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). *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(A), 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.
- Yadav, S., & Kapley, A. (2021). Antibiotic resistance: Global health crisis and metagenomics. *Biotechnology Reports*, 29, e00604. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00604>
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3). <https://doi.org/10.1177/1934578X20903555>