

Jamur Endofitik BJS-3 Asosiasi Sambiloto (*Andrographis paniculata*): Skiring Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan

Endophytic Fungal BJS-3 Associated Sambiloto (*Andrographis paniculata*): Screening Phytochemistry and Antioxidant Activity

Riga Riga^{1,*}, Mauline Adia Silvani¹, Wandu Oktria¹, Edi Nasra¹, Desy Kurniawati¹, Dewi Meliati Agustin²

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Indonesia

²Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Indonesia

*Email Korespondensi: rigakimia@fmipa.unp.ac.id

Abstrak

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) adalah salah satu anggota keluarga Acanthaceae yang mampu mensintesis beragam senyawa bioaktif dan memiliki aktivitas biologis. Salah satu aktivitas tersebut adalah antioksidan. Sumber alternatif pencarian metabolit sekunder dengan aktivitas antioksidan dari sambiloto adalah dengan memanfaatkan jamur endofitik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan metabolit sekunder dan menentukan sifat antioksidan (IC₅₀) dari jamur BJS-3 yang berasosiasi dengan biji sambiloto. Tahapan riset ini meliputi inokulasi, optimasi, fermentasi, dan ekstraksi dengan pelarut etil asetat dan diperoleh ekstrak etil asetat (EtOAc). Ekstrak EtOAc jamur BJS-3 tersebut dianalisis kandungan metabolit sekunder dan sifat antioksidannya. Hasil uji fitokimia pada jamur endofitik BJS-3 menunjukkan positif bahwa ekstrak tersebut mengandung terpenoid dan senyawa fenolik. Sementara itu, uji aktivitas antioksidan mengindikasikan bahwa ekstrak jamur BJS-3 berpotensi sebagai agen antioksidan yang tergolong kuat (IC₅₀ = 67,58 ppm).

Kata Kunci: Antioksidan, *Andrographis paniculata*, jamur endofitik

Abstract

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) is a member of the Acanthaceae family reported to synthesis various bioactive compounds and has biological activities. One of the activities is antioxidant. An alternative source of searching for antioxidant compounds from Sambiloto is its endophytic fungi. The research aims to examine the content of secondary metabolites and determine the antioxidant activity of the BJS-3 endophytic fungus associated with Sambiloto seeds. The steps of the research were inoculation, optimization, fermentation, as well as extraction using ethyl acetate to obtain crude extract

(EtOAc). Crude extract of fungal BJS-3 was evaluated for their phytochemical screening and antioxidant activity. The results of the phytochemical test on the endophytic fungus BJS-3 showed positive for terpenoids and phenolic compounds. Furthermore, antioxidant activity of extract of fungal BJS-3 was categorized as strong antioxidant properties ($IC_{50} = 67.58$ ppm).

Keywords: Antioxidant, *Andrographis paniculata*, endophytic fungi

Received: 06 September 2023

Accepted: 28 October 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.2034>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Riga, R., Silvani, M. A., Oktria, W., Nasra, E., Kurniawati, D., Agustin, D. M., 2023. Jamur Endofitik BJS-3 Asosiasi Sambiloto (*Andrographis paniculata*): Skiring Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan. *J. Sains Kes.*, 5(5). 695-700. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.2034>

1 Pendahuluan

Sambiloto adalah salah satu spesies tumbuhan yang termasuk ke dalam keluarga Acanthaceae dan tersebar di berbagai daerah di Indonesia. Sambiloto memiliki khasiat sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan gatal-gatal, mengobati diabetes, tekanan darah tinggi, dan reumatik [1]. Lebih lanjut, sambiloto memiliki potensi sebagai sumber senyawa antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan sitotoksik [2]. Kandungan senyawa kimia yang dimiliki oleh sambiloto yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin [3]. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan dapat menetralkan radikal bebas sehingga berperan sebagai agen antioksidan [4].

Antioksidan adalah suatu spesi yang mendonorkan elektron untuk menangkal radikal bebas dalam sistem tubuh manusia melalui mekanisme pengikatan molekul radikal bebas [4]. Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik merupakan antioksidan diproduksi melalui reaksi dan dilaporkan dapat

menimbulkan efek samping karena memiliki sifat karsinogenik. Sementara itu, antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari bahan alam termasuk tumbuh-tumbuhan dan mikroba [5].

Selain menggunakan tanaman inang, pencarian sumber senyawa bioaktif seperti antioksidan dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroba endofitik. Salah satu mikroba yang dilaporkan mensintesis metabolit sekunder bioaktif yaitu jamur endofitik. Jamur endofitik dapat didefinisikan sebagai kelompok jamur yang berasosiasi di dalam jaringan tumbuhan terutama bunga, akar, ranting, biji, batang dan daun. Jamur endofitik dapat memproduksi metabolit sekunder yang sama maupun berbeda dengan tanaman inangnya [6]. Laporan menunjukkan bahwa metabolit sekunder tersebut berpotensi sebagai agen antioksidan. Keunggulan dari jamur endofitik ini dalam penggunaannya lebih efisien karena siklus hidupnya yang singkat dan juga dapat menjaga kelestarian tumbuhan [7].

Pada penelitian ini, jamur endofitik dengan kode BJS-3 telah berhasil diisolasi dari biji

sambiloto. Menariknya, riset terkait sifat antioksidan jamur endofitik yang berkolonisasi dalam biji sambiloto belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, riset tentang skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan jamur endofitik BJS-3 yang diisolasi dari biji sambiloto dilakukan pada studi ini.

2 Metode Penelitian

2.1 Sterilisasi dan Inokulasi

Biji sambiloto dicuci menggunakan air untuk mengeliminasi kotoran di permukaan biji. Biji sambiloto kemudian disterilisasi menggunakan alkohol 70% (45 detik) dan NaOCl 3,5% (30 detik) dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan akuades untuk mensterilisasi permukaan biji. Media PDA padat dijadikan kontrol negatif dengan menempelkan biji yang sudah disterilisasi. Proses inokulasi juga dilakukan menggunakan media PDA padat dengan memindahkan biji yang sudah steril kedalamnya. Media padat yang sudah diinokulasi biji tadi diinkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari. Jamur endofit yang tumbuh di subkultur ke media PDA lain untuk mendapatkan isolat tunggal [8].

2.2 Fermentasi

Isolat tunggal jamur endofit BJS-3 dipotong berukuran 1×1 cm dan difermentasi di atas media beras. Fermentasi dilakukan di atas media beras dalam 10 buah Erlenmeyer 250 mL. Masing-masing Erlenmeyer yang berisi jamur dipanen setelah tiga minggu dan dilanjutkan proses maserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 75 ml, lalu diuapkan pelarutnya untuk mendapatkan ekstrak pekat etil asetat jamur BJS-3. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dilanjutkan pengujian untuk analisa fitokimia dan aktivitas antioksidannya.

2.3 Analisa Fitokimia

2.3.1 Fenolik

Analisa senyawa fenol dilakukan di atas plat tetes dengan menambahkan 3 tetes besi (III) klorida (FeCl_3) 1% pada ekstrak etil asetat jamur endofit BJS-3. Ekstrak pekat positif fenolik ditandai dengan adanya perubahan warna biru kehitaman [9]

2.3.2 Terpenoid

Ekstrak pekat etil asetat jamur endofit BJS-3 yang diperoleh dilarutkan dan dipindahkan 0,5 mL ke dalam wadah kaca. Sampel kemudian dicampurkan dengan kloroform (0,5 mL) dan asam sulfat pekat (0,5 mL). Munculnya warna coklat kemerahan mengindikasikan kehadiran senyawa terpenoid [10].

2.3.3 Steroid

Analisa senyawa steroid dilakukan dengan mereaksikan 0,5 mL CHCl_3 , 1,0 mL anhidrida asetat, dan 2 tetes H_2SO_4 dan 0,5 mL larutan ekstrak pekat. Timbulnya warna hijau gelap pada larutan mengidentifikasi kehadiran steroid [10]

2.4 Analisa Aktivitas Antioksidan

Larutan induk 100 ppm dibuat dengan melarutkan ekstrak etil asetat jamur endofitik BJS-3 (2,5 mg) dalam 250 ml metanol. Larutan induk dibuat menjadi beberapa variasi dengan pengenceran menggunakan metanol (variasi konsentrasi 50 sampai 90 ppm). Larutan DPPH 50 ppm dipreparasikan dengan mencampurkan 5 mg DPPH dalam 100 ml metanol p.a. Larutan stok DPPH 50 ppm yang sudah dipersiapkan dipipet sebanyak 1 ml dan dicampurkan dengan 2 ml metanol p.a untuk membuat larutan blanko. Larutan induk ekstrak etil asetat jamur endofit BJS-3 masing-masing dipipet 2 mL dan dicampurkan dengan 2 ml larutan DPPH 50 ppm. Campuran kemudian disimpan dalam inkubator (waktu = 30 menit, suhu = 27 °C). Campuran selanjutnya diukur absorbansi uji pada panjang gelombang 517 nm [11]. % Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan Persamaan 1.

$$\% \text{ antioksidan} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 1})$$

Nilai IC_{50} antioksidan ekstrak pekat etil asetat jamur endofit BJS-3 diperoleh menggunakan kurva regresi dengan konsentrasi pada sumbu x dan % antioksidan pada sumbu y [11].

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi Jamur Endofitik BJS-3

Biji sambiloto dibersihkan permukannya menggunakan dengan air bersih yang mengalir. Biji tersebut lalu disterilasi permukaannya menggunakan etanol 70% dan NaOCl 3,5%. Tahapan sterilisasi ini bertujuan menghilangkan mikroba epifit pada permukaan biji sehingga dapat dikonfirmasi bahwa jamur yang hidup di media PDA nantinya adalah jamur endofitik. Biji yang telah steril diinokulasi di atas media padat PDA. Media PDA mempunyai komposisi pati dari umbi kentang dan dapat dimanfaatkan oleh jamur endofitik sebagai sumber nutrisi untuk perkembangan hidup jamur endofitik. Hal inilah yang menjadi salah satu alasan pemilihan PDA sebagai media pertumbuhan jamur [12, 13].

Tahapan inokulasi jamur berlansung tujuh hari dan kemudian dilakukan sub-kultur terhadap jamur yang tumbuh ke media PDA baru. Hasil sub-kultur menunjukkan bahwa terdapat tiga isolat tunggal jamur dan diberi label BJS-1, BJS-2, dan BJS-3. Pemilihan isolat tunggal jamur untuk dilakukan tahapan lanjut didasarkan pada hasil analisis pengamatan morfologi jamur. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa jamur endofitik BJS-3 mempunyai morfologi hifa yang berbeda dengan jamur endofitik yang pernah dilaporkan dari tumbuhan sambiloto. Secara makroskopik, morfologi jamur BJS-3 adalah membentuk koloni yang memusat dengan warna putih, bentuk bulat.

3.2 Waktu Fermentasi Optimum Jamur Endofitik BJS-3

Tabel 1. Massa ekstrak jamur BJS-3 (mg) hasil fermentasi

Hari ke-	Massa
2	32,8
4	33,0
6	32,8
8	33,2
10	33,4
12	34,5
14	35,2
16	35,8
18	36,1
20	88,7
22	89,2
24	89,5
26	90,4
28	92,4
30	92,4

3.3 Fermentasi Jamur Endofitik BJS-3

Fermentasi jamur endofitik BJS-3 dilakukan di atas media beras dalam skala besar untuk memperoleh ekstrak dengan kuantitas yang lebih banyak. Pemilihan media beras sebagai media fermentasi karena beras memenuhi kriteria sebagai penyuplai nutrisi untuk perkembangan jamur selama masa fermentasi [14]. Isolat jamur BJS-3 yang difermentasi tadi dimaserasi etil asetat. Pemilihan pelarut EtOAc karena spektrum kepolarannya yang mendekati semipolar. Sifat kepolaran ini menyebabkan etil asetat dapat mengekstrak metabolit sekunder dalam spektrum yang lebih luas (senyawa polar, semipolar dan non polar) [8]. Ekstrak EtOAc diuapkan dengan *rotary evaporator* dan didapatkan ekstrak pekat EtOAc dengan massa 975 mg.

3.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Pekat EtOAc Jamur BJS-3

Tabel 2. Hasil analisa skrining fitokimia ekstrak jamur BJS-2

No	Analisa Fitokimia	Hasil Analisa
1	Terpenoid	+
2	Steroid	-
3	Senyawa Fenolik	+

Data yang ditampilkan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak jamur BJS-3 positif mengandung senyawa terpenoid dan fenolik. Munculnya warna pada larutan yang diujikan mengindikasikan kehadiran senyawa golongan fenolik dan terpenoid. Uji terpenoid terhadap ekstrak BJS-3 memberikan warna merah-coklat. Timbulnya warna ini mengindikasikan adanya senyawa golongan terpenoid. Sementara itu, uji steroid tidak menimbulkan warna hijau gelap sehingga dapat dipastikan ketiadaan senyawa steroid pada ekstrak jamur BJS-3 tersebut. Sementara itu, timbulnya warna merah kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenolik dalam ekstrak jamur BJS-3.

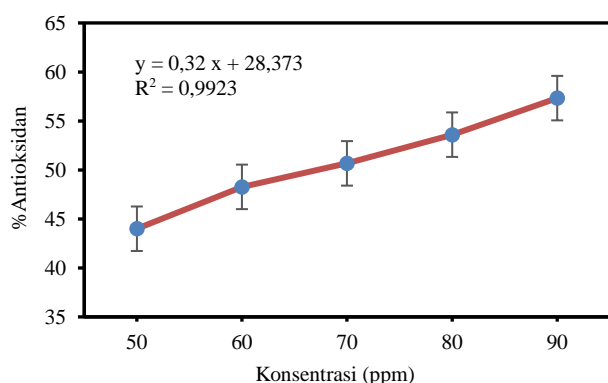
3.5 Uji Antioksidan Ekstrak Pekat EtOAc Jamur BJS-3

Ekstrak jamur endofitik BJS-3 juga diuji sifat antioksidannya mengikuti metode DPPH.

Pemilihan metode ini karena jumlah sampel yang dibutuhkan pada uji ini adalah sedikit. Selain itu, tahapan metode DPPH tergolong sederhana [15]. Hasil pengujian sifat antioksidan ekstrak jamur BJS-3 ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji sifat antioksidan ekstrak jamur BJS-3

Absorban Blanko	Konsentrasi	Absorban	%Antioksidan
0,125	50 ppm	0,070	44,00
0,125	60 ppm	0,065	48,27
0,125	70 ppm	0,062	50,67
0,125	80 ppm	0,058	53,60
0,125	90 ppm	0,053	57,33



Gambar 1. Kurva antioksidan ekstrak jamur BJS-3

Penetapan nilai IC_{50} terkait sifat antioksidan jamur BJS-3 dilakukan dengan analisis kurva kalibrasi. IC_{50} dapat didefinisikan sebagai nilai konsentrasi suatu sampel yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Hasil analisis kurva antioksidan pada gambar 1 menghasilkan persamaan $y = 0,32x + 28,373$. Nilai IC_{50} diperoleh dengan mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y sehingga diperoleh nilai IC_{50} ekstrak jamur BS-3 adalah 67,58 ppm. Penggolongan aktivitas antioksidan berdasarkan IC_{50} ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Kriteria sifat antioksidan [16]

Nilai IC_{50}	Sifat Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah

Kriteria pada tabel 4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak jamur endofitik BJS-3 dikategorikan kuat. Sifat antioksidan dari hasil percobaan ini merupakan nilai IC_{50} dari jamur endofitik BJS-3. Hal ini didukung oleh fakta ketidakhadiran metabolit sekunder dari media beras kosong atau control negatif. Sifat antioksidan ini juga berkorelasi dengan kehadiran metabolit sekunder pada ekstrak jamur endofitik BJS-3 yaitu terpenoid dan senyawa fenolik. Kedua golongan senyawa memiliki peluang sebagai agen. Kandungan metabolit sekunder golongan fenolik pada jamur BJS-3 dianalisis memiliki aktivitas antioksidan karena diprediksi memiliki cincin fenolik, yaitu senyawa dengan gugus hidroksi yang berikatan dengan cincin benzena. Hal ini diprediksikan dapat menyumbangkan atom hidrogen dan menyebabkan radikal bebas DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Peningkatan jumlah gugus OH yang dimiliki oleh senyawa fenolik akan meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak tersebut [11]. Lebih lanjut, terpenoid berperan sebagai agen antioksidan melalui pengurangan pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil [17].

4 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa massa ekstrak pekat EtOAc jamur endofitik BJS-3 yang diperoleh adalah 975 mg. Ekstrak EtOAc jamur BJS-3 tersebut menunjukkan hasil uji fitokimia yaitu positif mengandung terpenoid dan senyawa fenolik. Analisis sifat antioksidan jamur BJS-3 yang diisolasi dari biji sambiloto menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menunjukkan sifat antioksidan yang kuat ($IC_{50} = 67,58$ ppm).

5 Pernyataan

5.1 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.3 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] E. P. N. Rachmani, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*)," *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, vol. 1, no. 2, pp. 100–105, 2017, doi: 10.24123/mpi.v1i2.192.
- [2] M. Silalahi, "Sambiroto (*Andrographis paniculata*) dan Bioaktivitasnya," *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, vol. 3, no. 1, pp. 76–84, 2020, doi: 10.30743/best.v3i1.2448.
- [3] J. I. Royani, D. Hardianto, and S. Wahyuni, "Analisa Kandungan Andrographolide pada Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Dari 12 Lokasi di Pulau Jawa," *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, vol. 1, no. 1, pp. 15–20, 2014, doi: 10.29122/jbbi.v1i1.547.
- [4] T. Apriliani and Tukiran, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispata* L., Blume) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. f. Nees) dan Kombinasinya," 2021.
- [5] Katrin and A. Bendra, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq .," *Pharm Sci Res*, vol. 2, no. 1, 2015.
- [6] V. V. Hasiani, I. Ahmad, and L. Rijai, "Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.)," *Jurnal Sains dan Kesehatan*, vol. 1, no. 4, pp. 146–153, 2015.
- [7] P. Viogenta, S. Nurjanah, Y. Wahyu, and T. Mulyani, "Isolasi Jamur Endofitik Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dan Analisis Potensi Sebagai Antimikroba," *Jurnal Pharmascience*, vol. 07, no. 01, pp. 72–83, 2020.
- [8] R. Riga, R. Aulia Suhanah, S. Suryelita, S. Benti Etika, and M. Ulfah, "Jamur Endofitik yang Diisolasi dari Bunga *Andrographis paniculata* (Sambiloto) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri," *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, vol. 4, no. 1, pp. 139–148, May 2021, doi: 10.36387/jifi.v4i1.664.
- [9] Elita A, Saryono S, and Christine J, "Penentuan Waktu Optimum Produksi Antibakteri dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*)," *Che.Acta*, vol. 3, no. 2, 2013.
- [10] F. G. Saqallah, W. M. Hamed, and W. H. Talib, "In vivo evaluation of *Antirrhinum majus*' wound-healing activity," *Sci Pharm*, vol. 86, no. 4, Dec. 2018, doi: 10.3390/scipharm86040045.
- [11] D. Tristantini, A. Ismawati, B. Tegar Pradana, and J. Gabriel Jonathan, "Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia 'Kejuangan' Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L)".
- [12] R. Riga and E. H. Hakim, "Aktivitas Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofitik *Colletotrichum gloeosporioides*," *Jurnal Farmasi Udayana*, p. 193, Dec. 2021, doi: 10.24843/jfu.2021.v10.i02.p15.
- [13] A. J. Yastanto, "Karakteristik Pertumbuhan Jamur pada Media PDA dengan Metode Pour Plate," Online, 2020.
- [14] A. W. Ningsih, I. Hanifa, and A.' Yunil Hisbiyah, "Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia," 2020.
- [15] D. P. Wijaya, J. E. Paendong, and J. Abidjulu, "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)," *Jurnal MIPA*, vol. 3, no. 1, p. 11, 2014, doi: 10.35799/jm.3.1.2014.3899.
- [16] D. Tristantini, A. Ismawati, B. T. Pradana, and J. G. Jonathan, "Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol daun tanjung (*Mimusops elengi* L)," pp. 1–7, 2016.
- [17] L. Kartika, M. Ardana, and R. Rusli, "Aktivitas Antioksidan Tanaman Genus *Artocarpus*," *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, pp. 237–244, 2020.