

JAMUR ENDOFITIK BS-1 DARI BUNGA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) PADA MEDIA PERTUMBUHAN KACANG HIJAU: SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Siti Aisyah¹, Wandu Oktria¹, Mauline Adia Silvani¹, Riga Riga^{*}

¹Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang

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

ABSTRAK

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) termasuk salah satu tanaman obat dalam famili Acanthaceae. *A. paniculata* dilaporkan menghasilkan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan yang efektif dalam penghambatan radikal bebas. Studi lebih lanjut aktivitas antioksidan pada tumbuhan ini dapat dielaborasi menggunakan jamur endofitiknya. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa fitokimia dan mengukur aktivitas antioksidan (IC₅₀) jamur endofitik BS-1 pada bunga sambiloto. Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat (EtOAc) jamur endofit BS-1 dinyatakan positif mengandung senyawa steroid, terpenoid, fenolik, dan alkaloid. Hasil uji antioksidan mengindikasikan kemampuan penghambatan radikal bebas yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ = 34,61 ppm.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, aktivitas antioksidan, jamur endofitik

ABSTRACT

Sambiloto (Andrographis paniculata) is a medicinal plant in the Acanthaceae family. A. paniculata is known to synthesize active compounds with potent antioxidant properties that effectively hinder the activity of free radicals. Further studies of the antioxidant activity of this plant can be elaborated using its endophytic fungi. This research aims to analyze phytochemicals and measure the antioxidant activity (IC₅₀) of the endophytic fungus BS-1 in flower of sambiloto. Evaluation of antioxidant activity was carried out using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) method. The results of the phytochemical screening of the ethyl acetate extract (EtOAc) of the BS-1 endophytic fungus were declared positive for containing steroid, terpenoid, phenolic and alkaloid compounds. The antioxidant test results indicated a very strong free radical inhibition ability with an IC₅₀ value = 34.61 ppm.

Keywords: *Andrographis paniculata*, antioxidant activity, endophytic fungi

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan molekul yang dapat digunakan untuk menghambat radikal bebas dengan cara memberikan salah satu elektronnya pada radikal bebas yang kehilangan pasangan elektronnya. Setiap orang membutuhkan

antioksidan untuk menetralkan radikal bebas dalam tubuh (Irwandi et al., 2022). Alamiyahnya, tubuh manusia menghasilkan antioksidan untuk menetralkan kadar radikal bebas yang hadir dalam tubuh. Keseimbangan ini terganggu ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan yang dihasilkan. Untuk itu, diperlukan tambahan antioksidan dari sumber eksternal, baik yang bersumber dari bahan alami maupun sintetis (Tristantini et al., 2016).

Antioksidan sintetis merupakan jenis antioksidan yang dihasilkan melalui reaksi kimia. Namun, sebagian di antaranya memiliki sifat karsinogenik yang dapat membahayakan kesehatan. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang dianggap lebih aman karena berasal dari sumber-sumber alam seperti tumbuhan dan mikroba, tanpa mengandung bahan kimia yang berpotensi membahayakan tubuh. Antioksidan ini diperoleh dari sumber-sumber alami seperti tumbuhan dan mikroba (Apriliani & Tukiran, 2021). Berdasarkan penelitian oleh (Apriliani & Tukiran, 2021) diketahui bahwa Sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki aktivitas antioksidan.

A. paniculata, yang lebih dikenal sebagai sambiloto merupakan tanaman obat yang tergolong ke dalam famili Acanthaceae yang banyak dijumpai di berbagai wilayah di Indonesia. *A. paniculata* memiliki kandungan utama yang disebut andrographolide yang berperan sebagai immunomodulator, artinya zat ini dapat meningkatkan fungsi sistem kekebalan tubuh (Jiang et al., 2021). *A. paniculata* umumnya diaplikasikan dalam pengobatan berbagai macam penyakit seperti penyakit menular, kudis gangguan pencernaan pilek. *A. paniculata* dilaporkan mengandung senyawa aktif seperti saponin, tannin, flavonoid dan alkaloid (Affandi & Setyono, 2023). Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas (Silalahi, 2020).

Eksplorasi senyawa metabolit sekunder selain menggunakan tanaman inang dapat juga dilakukan menggunakan teknologi terbaru yaitu melalui jamur endofitik. Jamur endofitik adalah organisme hidup dengan berasosiasi di jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan efek yang merugikan tanaman inang (Caicedo et al., 2019). Jamur endofitik tumbuh dan berkembangbiak dalam berbagai jaringan tanaman seperti daun, ranting, biji, akar, buah, dan bunga. Jamur endofitik membentuk hubungan yang saling menguntungkan dengan inangnya

(Riga & Hakim, 2021). Jamur endofitik memiliki keunggulan yaitu sangat mudah tumbuh, dan tidak memerlukan banyak tanaman inang, sehingga dapat menghasilkan banyak metabolit sekunder dalam waktu yang singkat (Viogenta et al., 2020).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa jamur endofitik dengan kode BS-1 berhasil diisolasi dari bunga sambiloto. Jamur endofitik BS-1 positif memiliki beberapa senyawa seperti tepenoid, steroid, fenolik dan alkaloid. Menariknya, studi tentang jamur BS-1 yang ditumbuhkan pada media kacang hijau untuk pertama kali dilaporkan pada kesempatan ini.

METODE

Alat dan Bahan

A. Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari neraca analisis, *laminar airflow*, spektrofotometri UV-Vis (*Agilant 8453*), aluminium foil, sarung tangan, jarum ose, *waterbath*, inkubator, cawan petri (*pyrex*), corong (*pyrex*), kuvet, *autoclave*, lidi, dan botol vial.

B. Bahan

Bahan pada riset ini adalah metanol p.a, alkohol 70%, air suling, Potato Dextrose Agar (PDA), kacang hijau, etil asetat, H₂SO₄ 2N, HCl p.a, FeCl₃ 1%, asam asetat glasial, asam asetat anhidrat, NaOCl₃ 3,5%, logam Mg, DPPH, amoniakloroform, reagen Dragendorf, Mayer, dan Wagner.

C. Metode

Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofitik

Isolat murni jamur endofitik BS-1 dipindahkan berukuran 1x1 cm ke atas media kacang hijau untuk dikultivasi, selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C, dan dibiarkan hingga tiga minggu. Jamur endofitik yang telah mencapai suhu optimum dipanen dan diekstraksi menggunakan 75 mL EtOAc. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam kemudian di saring. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya hingga tersisa ekstrak pekat EtOAc (Silvani et al., 2023).

Pengujian IC₅₀

a) Pembuatan Larutan Induk Sampel 100 ppm

Ekstrak pekat EtOAc diambil sebanyak 2,5 dan dilarutkan dengan 25 mL metanol. Larutan induk yang sudah disiapkan lalu diencerkan dengan variasi konsentrasi, yaitu 50 sampai 90 ppm. Larutan-larutan ini selanjutnya diinkubasi dengan suhu 27°C dalam waktu 30 menit (Silvani et al., 2023).

b) Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Padatan DPPH ditimbang 2,5 mg dan dilarutkan menggunakan 50 mL metanol. Selanjutnya, siapkan sebanyak satu mL DPPH 50 ppm serta 2 mL metanol sebagai larutan kontrol (Silvani et al., 2023).

c) Pengukuran Absorbansi Sampel

Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm digunakan untuk menentukan absorbansi sampel yang telah diinkubasi dengan suhu kamar (Silvani et al., 2023).

d) Pengujian IC₅₀

Metode yang dipakai pada pengujian antioksidan yaitu metode DPPH. Reaksi antioksidan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi dengan sifat non-radikal. Parameter keberhasilan meredam radikal bebas yaitu adanya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat yang berarti DPPH tereduksi. Aktivitas antioksidan dijelaskan dalam IC₅₀ (persentase penghambatan dari DPPH). Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi yang mengakibatkan 50% aktivitas DPPH hilang. Jika nilai IC₅₀ tinggi maka aktivitas antioksidan rendah. Selanjutnya absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 517 nm memakai spektrofotometri UV-Vis. Data absorbansi sampel diproses menggunakan kurva regresi untuk menentukan nilai IC₅₀ (Oktria et al., 2023).

Skrining Fitokimia

Steroid

Ekstrak EtOAc 0,5 mL dilarutkan dalam kloroform dan ditambahkan pereaksi Liebermann burchard. Jika terbentuk warna hijau menandakan adanya steroid (Amelia & Riga, 2023).

Terpenoid

Ekstrak EtOAc sebanyak 0,5 mL direaksikan menggunakan kloroform 0,5 mL, dan asam sulfat pekat 0,5 mL. Warna coklat menandakan adanya terpenoid (Amelia & Riga, 2023).

Fenolik

Sampel yang digunakan adalah ekstrak jamur BS-1. Ekstrak diteteskan pada pelat tetes dan dicampurkan dengan FeCl_3 1%. Munculnya warna biru kehitaman mengindikasikan kehadiran fenolik (Suputri et al., 2021).

Alkaloid

Ekstrak EtOAc dituangkan pada tabung reaksi, setelah itu dimasukkan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Positif alkaloid untuk masing-masing reagen yaitu terbentuknya endapan putih, endapan jingga, dan endapan coklat (Tuloli et al., 2023).

Pengujian Nilai IC_{50}

Nilai absorban setiap sampel dianalisis menggunakan kurva regresi untuk menentukan nilai IC_{50} (Oktria et al., 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kultivasi dan Ekstraksi

Isolat murni berukuran 1x1 cm jamur endofitik BS-1 dikultivasi menggunakan media kacang hijau, diinkubasi pada suhu 28°C selama tiga minggu (Oktria et al., 2023). Pemilihan media kacang hijau sebagai media pertumbuhan karena media ini dapat menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangan jamur endofitik. Nutrisi yang terdapat dalam media kacang hijau yaitu karbohidrat, protein, gluten, dan vitamin yang tinggi (Syafitri & Suparti, 2019). Jamur endofitik BS-1 juga dapat memanfaatkan media tersebut sebagai sumber energi. Jamur endofitik BS-1 dipanen setelah mencapai waktu optimum kemudian di ekstraksi dengan maserasi. Metode maserasi dipilih karena menghindari kerusakan senyawa aktif yang mungkin terjadi akibat pemanasan. Maserasi dilakukan memakai pelarut EtOAc yang termasuk pelarut semipolar. Pemilihan pelarut semipolar dilakukan untuk menarik lebih banyak metabolit sekunder. Alasan lain menggunakan pelarut EtOAc yaitu mudah menguap dan

memiliki tingkat toksisitas yang rendah sehingga cocok digunakan sebagai pelarut ekstraksi (Amelia & Riga, 2023).

2. Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil analisa fitokimia

Golongan Senyawa		Hasil
Steroid		+
Terpenoid		+
Fenolik		+
Flavonoid		-
Alkaloid	• Mayer	+
	• Dragendorf	+
	• Wagner	+

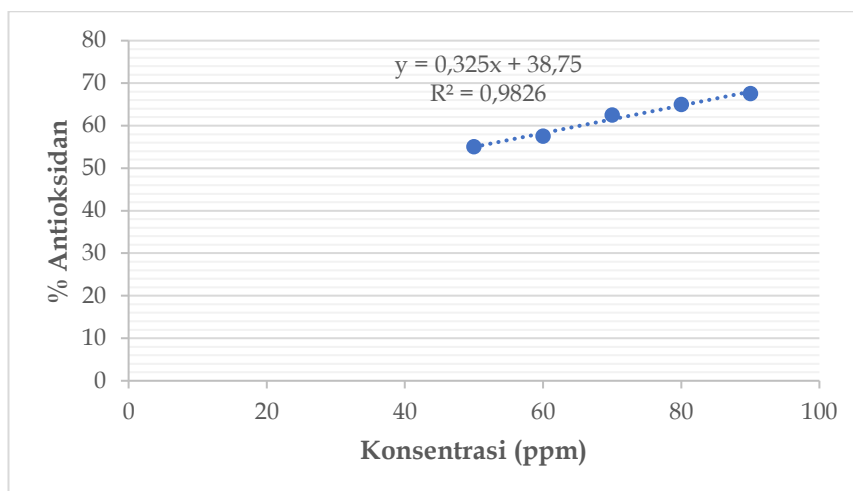
Tabel 1. Memaparkan bahwa ekstrak jamur endofitik BS-1 memiliki kandungan senyawa-senyawa seperti steroid, terpenoid, fenolik dan alkaloid. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa jamur endofitik RS-1 yang diisolasi dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi (Vanessa & Ikhsan, 2023). Kapasitas jamur endofitik untuk menghasilkan metabolit sekunder sebanding dengan kemampuan inangnya, didorong oleh koevolusi antara jamur endofit dan tanaman inangnya (Dion et al., 2021).

3. Pengujian IC₅₀

Aktivitas antioksidan jamur endofitik ekstrak EtOAc diuji dengan metode DPPH. Metode DPPH adalah metode yang mudah dilakukan dan tidak membutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak. Hasil uji IC₅₀ dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian IC₅₀

Absorbansi Kontrol	Konsentrasi	Absorbansi	%Antioksidan
0,085	50 ppm	0,018	55
0,085	60 ppm	0,017	57,5
0,085	70 ppm	0,015	62,5
0,085	80 ppm	0,014	65
0,085	90 ppm	0,013	67,5



Gambar 1. Kurva antioksidan ekstrak jamur BS-1

Penentuan nilai IC_{50} untuk aktivitas antioksidan jamur BS-1 dilakukan melalui analisis kurva kalibrasi. Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentration sampel yang mampu mengurangi 50% aktivitas radikal bebas DPPH. Berdasarkan analisa kurva antioksidan dalam Gambar 1, rumus yang digunakan adalah $y = 0,325x + 38,75$. Nilai IC_{50} dihitung dengan menggantikan nilai y dengan 50, sehingga didapatkan nilai IC_{50} ekstrak jamur endofitik BS-1 sebesar 34,61 ppm. Pengelompokkan aktivitas antioksidan berdasarkan IC_{50} tercantum dalam tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi sifat antioksidan

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

Hasil yang didapatkan pada Tabel 1. nilai IC_{50} sampel adalah 34,61 ppm yang menyatakan bahwa ekstrak EtOAc kategori kekuatan antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan dinilai berdasarkan nilai IC_{50} , klasifikasi sifat antioksidan terdiri dari sangat kuat jika nilai IC_{50} <50 ppm, kuat antara 50-100 ppm, sedang antara 101-250 ppm, dan lemah jika antara 251-500 ppm. Jika nilai IC_{50} rendah maka kekuatan antioksidan semakin kuat dalam menghambat radikal bebas (Moniung et al., 2022).

Hasil pengujian antioksidan berkaitan dengan kandungan senyawa aktif ekstrak jamur BS-1. Setiap senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme tersendiri dalam menangkal radikal bebas. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan melibatkan penyumbangan atom hidrogen kepada radikal bebas. Hal ini mengindikasikan alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer (Oktria et al., 2023). Steroid dan terpenoid efektif sebagai antioksidan primer karena mempunyai mekanisme kerja dengan menghambat terbentuknya radikal bebas dengan cara mendonorkan pasangan elektron yang menyebabkan terjadinya ikatan kovalen yang kuat (Khairun Nisa et al., 2024). Selain itu, mekanisme fenolik sebagai antioksidan adalah dengan menyumbangkan hidrogen yang menyebabkan penetralan radikal bebas yang memicu tahap oksidasi (Silvani et al., 2023).

SIMPULAN

Berdasarkan skrining fitokimia mengindikasikan ekstrak jamur endofitik BS-1 positif terdapat senyawa fenolik, terpenoid, steroid dan alkaloid. Analisis terhadap kekuatan antioksidan dari ekstrak jamur endofitik BS-1 dari bunga sambiloto mengindikasikan ekstrak tersebut kategori kekuatan antioksidan sangat kuat ($IC_{50} = 34,61$ ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. I., & Setyono, B. D. H. (2023). Potensi Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Sebagai Imunostimulan Pada Ikan. *Jurnal Vokasi Ilmu-Ilmu Perikanan (Jvip)*, 4(1), 131. <https://doi.org/10.35726/jvip.v4i1.7109>
- Amelia, S., & Riga, R. (2023). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN JAMUR AS-1 YANG DIISOLASI DARI AKAR SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DENGAN METODE DPPH (2,2-DEFENIL-1-PIKRILHIRAZIL). *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(3), 273. <https://doi.org/10.30591/pjif.v12i3.5176>
- Apriliani, N. T., & Tukiran, T. (2021). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEJIBELING (*Strobilanthes crispata* L., Blume) DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Burm. f. Nees) DAN KOMBINASINYA. *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 68. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i1.26634>

- Caicedo, N. H., Davalos, A. F., Puente, P. A., Rodríguez, A. Y., & Caicedo, P. A. (2019). Antioxidant activity of exo-metabolites produced by *Fusarium oxysporum*: An endophytic fungus isolated from leaves of *Otoba gracilipes*. *MicrobiologyOpen*, 8(10), 1–7. <https://doi.org/10.1002/mbo3.903>
- Dion, R., Maharani, N. A., Akbar, M. F., Wijayanti, P., & Nurlindasari, Y. (2021). Review: Eksplorasi Pemanfaatan Jamur Endofit pada Tanaman Curcuma dan Zingiber sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 5(1). <https://doi.org/10.46638/jmi.v5i1.167>
- Irwandi, Astuti, R. A., Rante, H., & Kursia, S. (2022). ISOLASI, SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FUNGI ENDOFIT TANGKAI DAUN MURBEI (*Morus alba* L.). *Jurnal Etnofarmasi*, 1. <https://unimuda.e-journal.id/jurnalfarmasiunimuda/article/download/2982/1170>
- Jiang, M., Sheng, F., Zhang, Z., Ma, X., Gao, T., Fu, C., & Li, P. (2021). *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees and its major constituent andrographolide as potential antiviral agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 272(February), 113954. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113954>
- Khairun Nisa, N., Marliana, E., & Erwin. (2024). POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) POTENTIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF SUNGKAI LEAVES (*Peronema canescens* Jack.). *Jurnal Atomik*, 9(1), 19–24. <https://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JAE-ISSN2549-005219https://doi.org/10.30872/ja.v9i1.1277>
- Moniung, P., Singkoh, M., & Butarbutar, R. (2022). Potensi Alga *Halymenia durvillei* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Bios Logos*, 12(1), 39. <https://doi.org/10.35799/jbl.v12i1.36721>
- Oktria, W., Riga, R., Ikhsan, M. H., & Agustini, D. M. (2023). Uji Antioksidan Fungi Endofitik Bs-1 Yang Berasosiasi Pada Bunga Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Dengan Beras Merah Sebagai Media Pertumbuhan. *Jurnal Zarah*, 11(1), 18–24. <https://doi.org/10.31629/zarah.v11i1.5545>
- Riga, R., & Hakim, E. H. (2021). Aktivitas Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofitik *Colletotrichum gloeosporioides*. *Jurnal Farmasi Udayana, January*, 193. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i02.p15>
- Silalahi, M. (2020). Sambiroto (*Andrographis paniculata*) dan Bioaktivitasnya. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 3(1), 76–84. <https://doi.org/10.30743/best.v3i1.2448>
- Silvani, M. A., Riga, R., & Agustini, D. M. (2023). Aktivitas Antioksidan Jamur Endofitik BS-1 yang Diisolasi dari Bunga Sambiloto Menggunakan Beras

Putih sebagai Media Pertumbuhan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 149–156.
<https://doi.org/10.25026/jsk.v5i2.1734>

Suputri, Y. D., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (*Zea mays* L.). *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 109. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3758>

Syafitri, A., & Suparti. (2019). Media Alternatif Bibit F1 Jamur Tiram Dan Jamur Kuping Menggunakan Biji Kacang Hijau Dan Kacang Merah Pertumbuhan Miselium. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek*, 4(1), 53–58.

Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol daun tanjung (*Mimusops elengi* L). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan,"* 1–7.
<http://www.jurnal.upnyk.ac.id/index.php/kejuangan/article/view/1547>

Tuloli, T. S., Abdulkadir, W. S., Aprianto Paneo, M., & Abdullah, N. (2023). Tingkat Pengetahuan Dan Persepsi Masyarakat Tentang Vaksin Covid-19 Studi Kasus : Kota Gorontalo. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(1), 175–185. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i1.18063>

Vanesa, A., & Ikhsan, M. H. (2023). Aktivitas antioksidan jamur endofitik RS-1 dari *Andrographis paniculata* (Sambiloto) menggunakan media beras merah. *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 5(1), 102–111.
<https://doi.org/10.20414/spin.v5i1.6995>

Viogenta, P., Nurjanah, S., & Mulyani, Y. W. T. (2020). Isolasi Jamur Endofitik Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dan Analisis Potensi Sebagai Antimikroba. *Jurnal Pharmascience*, 7(1), 72.
<https://doi.org/10.20527/jps.v7i1.8076>