

# Isolasi dan Uji Antagonis Antibakteri Fungi Endofit Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

## *Isolation and Antibacterial Antagonistic Assay of Endophytic Fungi from Sambiloto (Andrographis paniculata) Leaves against Staphylococcus aureus and Escherichia coli*

Pertiwi Ishak<sup>1,\*</sup>; Alham Muchtar<sup>2</sup>; Sustrin abasa<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup> Universitas Pancasakti, Makassar dan 90121, Indonesia

<sup>2</sup> Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Massenrempulu, Enrekang 91711, Indonesia

<sup>1</sup> [pertiwi.ishak@unpacti.ac.id](mailto:pertiwi.ishak@unpacti.ac.id); <sup>2</sup> [alhammuchtar11041985@gmail.com](mailto:alhammuchtar11041985@gmail.com); <sup>3</sup> [sustrin.abasa@unpacti.ac.id](mailto:sustrin.abasa@unpacti.ac.id)

\* Corresponding author

**Article history:** Submit Bulan Mei, 2025; Revisi Bulan Mei, 2025; Accepted Bulan Mei, 2025; Publish Bulan Mei, 2025

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi fungi endofit dari daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Isolasi dilakukan dengan metode penanaman langsung pada media Potato Dextrose Agar (PDA). Tiga isolat fungi endofit berhasil diperoleh dan diidentifikasi secara morfologis sebagai *Lichtheima* sp., *Aspergillus niger*, dan *Trichoderma* sp. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Hasil menunjukkan bahwa semua isolat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji dengan diameter zona hambat berkisar antara 8,13 mm hingga 12,28 mm. Isolat *Lichtheima* sp. menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap *S. aureus*, sedangkan *Trichoderma* sp. paling efektif terhadap *E. coli*. Hasil ini menunjukkan potensi fungi endofit daun sambiloto sebagai sumber agen antibakteri alami.

**Kata Kunci:** fungi endofit; sambiloto; antibakteri; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

### Abstract

This study aims to isolate endophytic fungi from sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*) and evaluate their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The isolation was performed by direct planting on Potato Dextrose Agar (PDA) medium. Three endophytic fungal isolates were successfully obtained and morphologically identified as *Lichtheima* sp., *Aspergillus niger*, and *Trichoderma* sp. Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method. The results showed that all isolates were able to inhibit the growth of both test bacteria, with inhibition zone diameters ranging from 8.13 mm to 12.28 mm. *Lichtheima* sp. exhibited the highest activity against *S. aureus*, while *Trichoderma* sp. was most effective against *E. coli*. These findings suggest that endophytic fungi from sambiloto leaves have potential as natural antibacterial agents.

**Keywords:** endophytic fungi; sambiloto; antibacterial; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

### Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang terus berkembang dan menjadi perhatian global. Infeksi terjadi ketika mikroorganisme masuk ke dalam tubuh, berkembang biak, dan menimbulkan gangguan kesehatan. Sebagian besar infeksi disebabkan oleh bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [1]. Kedua bakteri ini masing-masing mewakili golongan Gram positif dan Gram negatif yang dapat menyebabkan berbagai penyakit, antara lain pneumonia, luka bernanah, radang paru-paru, endokarditis, hingga sepsis [2]. Bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui mampu bertahan hidup di lingkungan dengan kadar garam tinggi dan tumbuh pada suhu yang bervariasi [3].

Seiring meningkatnya kasus resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik, pencarian senyawa antimikroba baru menjadi kebutuhan mendesak dalam dunia kesehatan. Resistensi ini menyebabkan pengobatan infeksi menjadi

semakin sulit dan memicu timbulnya penyakit-penyakit infeksi yang tidak dapat ditangani dengan terapi konvensional [4].

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mencatat bahwa sekitar 90% masyarakat di negara-negara Asia masih menggunakan obat herbal untuk keperluan kesehatan [5]. Namun, penggunaan tanaman herbal secara terus-menerus dikhawatirkan dapat menyebabkan kelangkaan sumber daya alam. Oleh karena itu, eksplorasi sumber alternatif seperti fungi endofit menjadi solusi potensial. Fungi endofit adalah mikroorganisme yang hidup secara simbiotik di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan. Mikroorganisme ini diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas farmakologis, namun hingga kini masih belum banyak dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat [6].

Fungi endofit menjadi perhatian dalam penelitian bioprospeksi karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri, antijamur, antivirus, dan antikanker. Sumber senyawa bioaktif tersebut tidak hanya berasal dari tanaman, tetapi juga dari hewan, mikroba, dan organisme laut [7]. Mengingat pertumbuhan tanaman memerlukan waktu yang cukup lama, pemanfaatan fungi endofit yang berasosiasi dengan tanaman menjadi alternatif yang efisien dan berkelanjutan [8], [9].

Menurut Radji [10], ketersediaan bahan baku obat herbal yang terbatas dapat mengancam daya hayati di masa mendatang. Pemanfaatan bioteknologi, khususnya dalam peningkatan produksi metabolit sekunder melalui fungi endofit, menjadi strategi penting dalam pelestarian sumber daya hayati. Fungi endofit tidak hanya meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan tanaman, tetapi juga mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang unik dan bernilai farmasi tinggi [11], [12].

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai inang fungi endofit adalah sambiloto (*Andrographis paniculata*), yang dikenal luas sebagai tanaman obat di Indonesia. Tanaman ini telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk demam, radang amandel, radang usus besar, dan infeksi saluran pernapasan [13]. Daun sambiloto mengandung berbagai senyawa aktif seperti andrographolide, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin, yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologisnya sebagai antibakteri, antijamur, antivirus, antiinflamasi, hingga penguat sistem imun [14], [15].

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Suhanah et al. [16] telah berhasil mengisolasi fungi endofit dari bagian bunga sambiloto yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan temuan tersebut, maka penelitian ini akan difokuskan pada isolasi dan uji antagonis antibakteri fungi endofit dari daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## Metode

### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antagonis fungi endofit dari daun *Andrographis paniculata* (sambiloto) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Agustus 2024, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pancasakti Makassar.

### C. Populasi, Sampel, dan Bahan Uji

#### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berasal dari wilayah Hartako Jaya, Kecamatan Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan.

#### 2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang berasal dari biakan murni.

#### 3. Bahan Uji

Bahan uji utama yang digunakan adalah daun sambiloto segar.

#### **D. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: autoklaf, cawan petri, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 250 mL, beaker glass, inkubator, laminar air flow (LAF), oven, ose, pisau steril, dan timbangan analitik.

##### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan antara lain: alkohol 70%, aquadest steril, biakan murni *S. aureus* dan *E. coli*, daun sambiloto segar, kapas, kloramfenikol, larutan NaCl fisiologis 0,9%, larutan natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25%, media Nutrient Agar (NA), dan media Potato Dextrose Agar (PDA).

#### **E. Prosedur Penelitian**

##### **1. Pengambilan Sampel**

Daun sambiloto segar diambil dari daerah Hartako Jaya, Tamalanrea, Kota Makassar. Sampel dipilih dalam kondisi sehat, tidak cacat, dan tidak terinfeksi patogen.

##### **2. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat gelas disterilisasi menggunakan oven pada suhu 160°C selama 1 jam. Alat berbahan plastik disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan jarum ose dipijarkan di atas nyala bunsen sebelum digunakan [1].

##### **3. Pembuatan Media**

- Media Nutrient Agar (NA): Sebanyak 2,8 g NA dilarutkan dalam 100 mL aquadest, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit [2].
- Media Potato Dextrose Agar (PDA): Sebanyak 3,9 g PDA dan 10 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 100 mL aquadest, dipanaskan hingga larut, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dituangkan ke dalam cawan petri [2].

##### **4. Isolasi Fungi Endofit**

Potongan daun sambiloto (1×1 cm) disterilisasi permukaannya dengan mencuci menggunakan air mengalir selama 5 menit, direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan NaOCl 5,25% selama 5 menit, dan alkohol 70% selama 30 detik. Potongan daun kemudian dikeringkan menggunakan kertas saring steril dan ditanam di media PDA dalam cawan petri, lalu diinkubasi pada suhu ruang hingga muncul pertumbuhan jamur [3], [4]. Isolat jamur yang tumbuh dipindahkan ke PDA baru untuk mendapatkan kultur murni.

##### **5. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis**

Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap koloni jamur berdasarkan warna, bentuk, dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40× untuk melihat struktur hifa dan spora [5].

##### **6. Penyiapan Bakteri Uji**

Biakan murni *S. aureus* dan *E. coli* diremajakan dengan menggoreskan satu ose bakteri ke media miring NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni hasil remaja kemudian disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 5 mL [6].

##### **7. Uji Antagonis Fungi Endofit**

Suspensi fungi endofit dibuat dengan menambahkan aquadest steril ke kultur jamur. Kertas cakram direndam dalam suspensi selama 30 menit. Media NA yang telah memadat diinokulasikan dengan bakteri uji menggunakan kapas steril. Kertas cakram berisi fungi endofit diletakkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi bakteri. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam dan 2×24 jam [7].

##### **8. Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat**

Zona hambat di sekitar cakram diamati dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan setelah masa inkubasi masing-masing selama 1×24 jam dan 2×24 jam.

#### **F. Analisis Data**

Data hasil pengukuran zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS untuk menghitung rerata dan standar deviasi. Data morfologi fungi endofit disajikan dalam bentuk dokumentasi gambar makroskopis dan mikroskopis.

## Hasil dan Diskusi

### A. Isolasi Fungi Endofit dari Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Proses isolasi fungi endofit dari daun sambiloto menghasilkan tiga isolat yang berbeda. Isolat ini berhasil tumbuh dengan karakteristik makroskopik dan mikroskopik yang khas. Tabel 1 menunjukkan jumlah isolat yang berhasil diperoleh.

**Tabel 1.** Jumlah Isolat Fungi Endofit dari Daun Sambiloto

| <i>Bahan Uji</i> | <i>Jumlah Isolat</i> |
|------------------|----------------------|
| Daun sambiloto   | 3                    |

Karakteristik makroskopik masing-masing isolat dijelaskan dalam Tabel 2 berikut:

**Tabel 2.** Karakteristik Makroskopik Isolat Fungi Endofit Daun Sambiloto

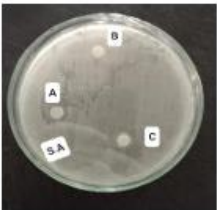
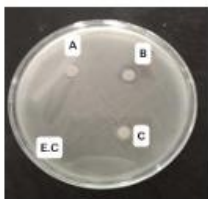
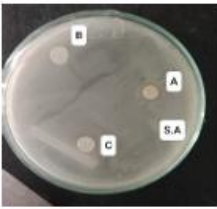
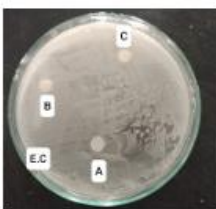
| <i>No</i> | <i>Isolat</i> | <i>Warna Koloni</i> | <i>Bentuk Koloni</i> | <i>Permukaan Koloni</i>  | <i>Dugaan Genus Fungi</i> | <i>Pustaka</i>        |
|-----------|---------------|---------------------|----------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 1         | Isolat 1      | Putih               | Bulat                | Halus seperti kapas      | <i>Lichtheima</i> sp.     | Izquierdo, 2010       |
| 2         | Isolat 2      | Coklat hitam        | Bulat menyatu        | Beludru                  | <i>Aspergillus niger</i>  | Indrawangsa dkk, 2017 |
| 3         | Isolat 3      | Hijau               | Bulat                | Sedikit putih kekuningan | <i>Trichoderma</i> sp.    | Provilia dkk, 2023    |

**Tabel 3.** Karakteristik Mikroskopik Isolat Fungi Endofit Daun Sambiloto (Perbesaran 40x)

| <i>Isolat</i> | <i>Deskripsi Mikroskopik</i>                         | <i>Dugaan Genus Fungi</i> | <i>Pustaka</i>        |
|---------------|------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Isolat 1      | Konidiofor tegak, konidia bulat telur                | <i>Lichtheima</i> sp.     | Izquierdo, 2010       |
| Isolat 2      | Konidiofor tegak, konidia coklat, hifa bersepta      | <i>Aspergillus niger</i>  | Indrawangsa dkk, 2017 |
| Isolat 3      | Konidiofor, konidia hijau, hifa bersepta, kladospore | <i>Trichoderma</i> sp.    | Provilia dkk, 2023    |

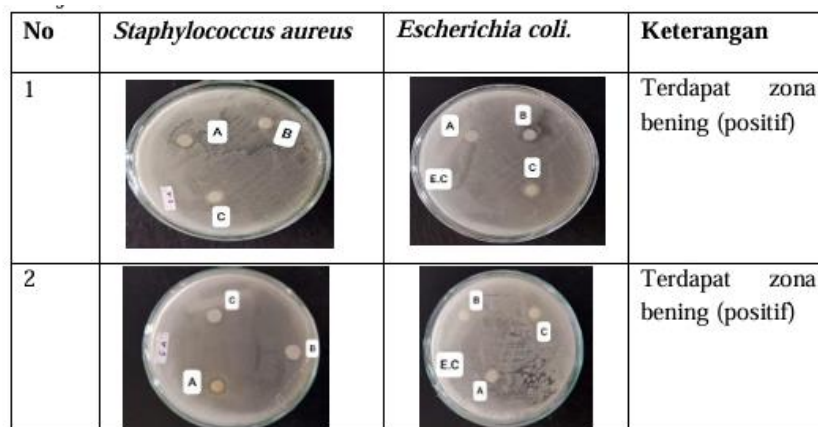
### B. Uji Antagonis Fungi Endofit terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil uji menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ketiga isolat fungi endofit yang diuji terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas.

| <i>No</i> | <i>Staphylococcus aureus</i>                                                        | <i>Escherichia coli</i>                                                              | <i>Keterangan</i>              |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| 1         |  |  | Terdapat zona bening (positif) |
| 2         |  |  | Terdapat zona bening (positif) |

Keterangan A : Isolat 1 (putih) B: Isolat 2 (coklat) C: Isolat 3 (hijau)

**Gambar 1.** Uji antagonis fungi endofit Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* 1x24 jam.



Keterangan A : Isolat 1 ( putih) B: Isolat 2 (coklat) C: Isolat 3 ( hijau)

**Gambar 2.** Uji antagonis fungi endofit Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* 2x24 jam.

**Tabel 4.** Rata-rata Diameter Zona Hambat (1x24 jam)

| Isolat   | <i>S. aureus</i> (mm) | <i>E. coli</i> (mm) |
|----------|-----------------------|---------------------|
| Isolat 1 | 11,48                 | 9,23                |
| Isolat 2 | 9,26                  | 10,01               |
| Isolat 3 | 8,13                  | 12,26               |

**Tabel 5.** Rata-rata Diameter Zona Hambat (2x24 jam)

| Isolat   | <i>S. aureus</i> (mm) | <i>E. coli</i> (mm) |
|----------|-----------------------|---------------------|
| Isolat 1 | 11,56                 | 9,24                |
| Isolat 2 | 9,39                  | 10,05               |
| Isolat 3 | 8,16                  | 12,28               |

### C. Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan bahwa daun sambiloto mengandung fungi endofit yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri. Ketiga isolat menunjukkan perbedaan morfologi dan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Isolat 1** :diduga *Lichtheima* sp. memiliki warna koloni putih seperti kapas dan aktivitas kuat terhadap *S. aureus*, serta sedang terhadap *E. coli*.

**Isolat 2** :kemungkinan *Aspergillus niger*, menunjukkan aktivitas sedang terhadap kedua bakteri.

**Isolat 3** :diduga *Trichoderma* sp., menunjukkan aktivitas kuat terhadap *E. coli* namun sedang terhadap *S. aureus*.

Peningkatan waktu inkubasi dari 1x24 jam menjadi 2x24 jam menunjukkan peningkatan diameter zona hambat, menunjukkan bahwa waktu berpengaruh terhadap produksi metabolit bioaktif oleh fungi. Berdasarkan klasifikasi Davis & Stout (1971), diameter zona hambat antara 10–20 mm dikategorikan sebagai aktivitas kuat, sedangkan 5–10 mm tergolong sedang. Dengan demikian, isolat 1 menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling konsisten dan kuat terhadap *S. aureus*, sedangkan isolat 3 paling efektif terhadap *E. coli*.

Zona hambat terbentuk akibat senyawa bioaktif dari fungi endofit yang mampu merusak dinding sel bakteri. Perbedaan kemampuan masing-masing isolat dalam menghambat bakteri disebabkan oleh perbedaan metabolit sekunder yang dihasilkan (Dharmawan et al., 2009). Struktur dinding sel bakteri juga mempengaruhi efektivitas penghambatan (Rida, 2016). Faktor kesalahan yang memengaruhi hasil antara lain kemungkinan kontaminasi saat isolasi, ketidakteelitian dalam pemotongan daun, serta kondisi laboratorium yang kurang steril.

### Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengisolasi tiga jenis fungi endofit dari daun sambiloto, yaitu *Lichtheima* sp., *Aspergillus niger*, dan *Trichoderma* sp. Ketiga isolat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan

*Escherichia coli*, dengan variasi kekuatan hambatan yang ditunjukkan oleh diameter zona hambat. Isolat *Lichtheima* sp. memiliki efektivitas tertinggi terhadap *S. aureus*, sedangkan *Trichoderma* sp. menunjukkan aktivitas paling kuat terhadap *E. coli*. Hasil ini menunjukkan bahwa fungi endofit dari daun sambiloto memiliki potensi sebagai sumber agen antibakteri alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi farmasi atau bioteknologi.

#### Daftar Pustaka

- [1] K. Kumar et al., "Antibacterial activity of *Andrographis paniculata* leaves against clinical pathogens," *Journal of Pharmacy Research*, vol. 6, no. 2, pp. 240–243, 2013.
- [2] A. J. Pandey and R. Sharma, "Andrographis paniculata: An overview of pharmacological and biochemical studies," *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, vol. 6, no. 53, pp. 1–5, 2016.
- [3] D. Wijayanti, "Potensi daun sambiloto sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*," *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, vol. 8, no. 1, pp. 12–18, 2020.
- [4] I. Syafitri, T. Santoso, dan A. M. Rizal, "Aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto terhadap bakteri gram positif dan negatif," *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol. 6, no. 2, pp. 145–150, 2018.
- [5] W. Wulandari dan A. Rachman, "Fungi endofit sebagai sumber agen antimikroba baru," *Jurnal Biologi Tropis*, vol. 10, no. 1, pp. 33–39, 2022.
- [6] M. A. Sari, N. Pratiwi, dan E. Mustika, "Studi potensi jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*," *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, vol. 7, no. 1, pp. 55–62, 2020.
- [7] Ratu, S., Nurhayati, dan A. Dewi, "Pembuatan media NA dan PDA untuk kultur mikroba," *Jurnal Bioteknologi Indonesia*, vol. 2, no. 1, pp. 33–39, 2010.
- [8] S. Pakaya, R. S. Wuntu, dan D. N. Suoth, "Sterilisasi alat laboratorium untuk isolasi mikroorganisme," *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, vol. 5, no. 2, pp. 75–80, 2023.
- [9] Suhartina, D., Yuliani, dan M. Fitri, "Isolasi jamur endofit dari daun obat tradisional," *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, vol. 6, no. 2, pp. 110–117, 2018.
- [10] Hamtini, A., I. Nurul, dan L. Sari, "Karakterisasi dan aktivitas antibakteri fungi endofit," *Jurnal Biofarmasetika*, vol. 9, no. 1, pp. 44–50, 2023.
- [11] Suhanah, D., A. Kurniawan, dan I. M. Pertiwi, "Identifikasi mikroskopis fungi endofit dari tanaman herbal," *Jurnal Biologi Tropis*, vol. 8, no. 2, pp. 99–105, 2022.
- [12] Rizki, H. R., F. Putri, dan Y. Ramadhan, "Prosedur penyiapan bakteri uji dalam analisis antibakteri," *Jurnal Mikrobiologi Farmasi*, vol. 7, no. 3, pp. 65–71, 2021.
- [13] Pakadang, L., S. Amiruddin, dan R. Wahyuni, "Uji aktivitas antibakteri mikroba endofit terhadap patogen manusia," *Jurnal Farmasi dan Biosains*, vol. 10, no. 2, pp. 118–124, 2021.
- [14] Fithriani, D., dan H. Yusuf, "Uji daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*," *Jurnal Biologi*, vol. 13, no. 1, pp. 24–30, 2022.
- [15] Widodo, P., dan R. Nurhayati, "Aktivitas antibakteri jamur endofit dari tanaman obat terhadap *E. coli* dan *S. aureus*," *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, vol. 7, no. 3, pp. 85–91, 2021.