

IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI COMPOUND ON WHITE WEED LEAVES (*Ageratum Conyzoides L.*) CONTAINING THE POTENTIAL TO PRODUCE ANTIBIOTICS BY TLC-BIOAUTOGRAPHY

Evi Rofika¹, Fitriana¹, Herwin¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info

Received: 05/10/2022

Review: 05/03/2023

Available online: 02/05/2023

Corresponding Author:

Evi Rofika

Department of Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar, South
Sulawesi, Indonesia
email: 15020180036@umi.ac.id

ABSTRACT

White weed (*Ageratum conyzoides L.*) is known to have antibacterial elements containing chemical compound such as saponin and flavonoids. This study aimed to examine the antibiotic activity of endophytic fungi isolates of white weed leaves by the TLC-Bioautography method. The results of endophytic fungi isolation of white weed leaves obtained 10 isolates consisting of IFDP 1, IFDP 2, IFDP 3, IFDP 4, IFDP 5, IFDP 6, IFDP 7, IFDP 8, IFDP 9, and IFDP 10. The results of the macroscopic examination of the ten isolates of endophytic fungi found different characteristics. The results of the screening using 9 samples obtained isolates that found activity showing high inhibitory power, such as IFDP 1, IFDP 2, and IFDP 4 isolates. Isolates of IFDP 1, IFDP 2 and IFDP 4 were fermented on MYB medium for 14 days. Then filtering and evaporation were carried out to produce an extract. Isolate fermentate extracts were identified using Thin Layer Chromatography with chloroform eluent: methanol (4:2). The antibiotic activity test was done using TLC-Bioautography method, and obtained an Rf value in isolate 1, at Rf 0.74 on *Vibrio cholerae*. Isolate 2 resulted rf value of 0.67 on *Salmonella thypi*, *Vibrio cholerae*, *Eschericia coli*, *disentriae*, *Staphylococcus epidermis*. Isolate 4 generated an Rf value of 0.74 on *Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio cholerae*. While the group of active chemical components contained in the endophytic fungi isolates of white weed leaves was lavonoids by using $AlCl_3$ reagents, $AlCl_3$ reagent alkaloids, and Sulfuric acid for saponin identification

Keyword:

Endophytic Fungi, White weed Leaves, Endophytic Fungi Isolates, TLC- Bioautography, Antibiotics



Copyright ©2023 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan tanaman sebagai obat alternatif. Para peneliti juga terus mengeksplorasi potensi besar yang dimiliki oleh tanaman yang digunakan sebagai obat alternatif yang bersifat alami (Pulungan & Brata, 2017, hal. 76). Tanaman obat sendiri memiliki ribuan jenis spesies. Sebanyak 40.000 jenis

tanaman yang ada di dunia, terdapat 30.000 jenis yang dapat ditemukan di Indonesia dan 940 jenis diketahui berkhasiat sebagai obat dan telah dipergunakan dalam pengobatan tradisional secara turun-temurun oleh masyarakat di Indonesia¹

Tanaman obat yang cukup dikenal masyarakat adalah tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). Bandotan digunakan masyarakat untuk obat luka,

dipercaya dapat menghentikan pendarahan dan mempercepat proses penyembuhan pada luka yaitu dengan mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri. *Ageratum conyzoides* L. merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki banyak khasiat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit salah satunya luka akibat goresan senjata tajam atau luka bakar². Bagian tanaman *Ageratum conyzoides* L. yang digunakan sebagai antibakteri pada luka luar adalah daunnya karena diduga mempunyai kandungan kimia yang berkhasiat sebagai antibakteri seperti saponin dan flavonoid³. Pada literatur lain diinformasikan bahwa tanaman *A. conyzoides* memiliki kandungan aktif dengan aktivitas antimikroba yang diketahui mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*³.

Perlu diketahui bahwa banyak jenis tumbuhan yang tersebar di muka bumi ini, masing - masing tumbuhan mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri dan fungi. Endofit mampu menghasilkan senyawa aktif dalam metabolit sekundernya yang memiliki kemampuan sebagai antikanker, antioksidan, antivirus, antibakteri dan antifungi⁴. Mikroorganisme endofit merupakan fungi yang hidup secara

internal dan berasosiasi di dalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tumbuhan inangnya. Fungi endofit mempunyai hubungan mutualistik dengan tanaman inangnya yaitu proteksi terhadap herbivore, serangga dan patogen. Fungi endofit menghasilkan berbagai senyawa yang memiliki aktivitas biologi, diantaranya steroid, terpenoid, fenolik, alkaloid dan sebagainya⁵.

Fungi endofit juga memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa bioaktif, baik sama maupun tidak sama dengan inangnya tetapi seringkali memiliki aktivitas biologis yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh inangnya. Hal ini menunjukkan senyawa bioaktif tidak hanya didapatkan pada kandungan tanaman obat saja salah satu fungsi dari fungi endofit adalah dapat berperan sebagai penghasil antibiotik⁶.

Berdasarkan uraian diatas, tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki banyak khasiat dalam pengobatan, namun penggunaannya sebagai penghasil antibiotik secara ilmiah masih kurang. Maka, hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian secara eksperimental di laboratorium dengan judul identifikasi senyawa fungi endofit pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang berpotensi sebagai penghasil antibiotika secara KLT-

Bioautografi. Hasil dari penelitian ini ditujukan agar penggunaan beruwah laut (*Scaevola tacadda* (Gaertn.) Roxb.) sebagai obat bahan alam dalam masyarakat dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

METODE

Alat dan Bahan

Autoklaf (SMIC model YX-280 BO), cawan petri(Normax), chamber, gelas erlenmeyer 250 mL (Iwaki Pyrex), gelas kimia 500 mL (Iwaki Pyrex), inkubator (Memmert), Laminar Air Flow (LAF), lampuspiritus, lampu UV 254 nm dan 366 nm, lempeng KLT (E.Merck), spoit, ose bulat, ose lurus, oven (Memmert), pipa kapiler, shaker, tabung reaksi, timbangan analitik (Chyo) dan vial.

Bahan - bahan yang digunakan yaitu aquadest, mikroba uji yaitu *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Salmonella typhi* NCTC 786, *Vibrio cholerae*, *Propionibacterium acnes*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, etanol 70%, etil asetat, kloroform, medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB), medium *Nutrient Agar* (NA), medium PDA, pereaksi Dragendorff, pereaksi FeCl₃, pereaksi HCl 2 N, dan pereaksi sitroborat.

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

a. Pengambilan sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun bandotan yang diperoleh di daerah Lembang Kab. Pinrang, Provinsi Sulawesi selatan.

b. Isolasi fungi endofit

Tumbuhan daun Bandotan dibersihkan menggunakan air mengalir. Diambil daunnya, dan didesinfeksi dengan etanol 70% dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan air steril selama 1 menit. kemudian sampel dikeringkan dengan menggunakan tissue steril selama satu menit. Sampel kemudian dipotong 1 cm, dan dibelah menjadi dua bagian kemudian masing-masing sampel diletakkan dalam medium Potato dekstrosa Agar (PDA), kemudian diinkubasi dalam suhu kamar selama 3 hari⁷.

c. Pemurnian fungi endofit

Setiap isolat yang berbeda dimurnikan dengan metode tusuk untuk memperoleh isolat yang tunggal. Pemurnian dilakukan dengan menggunakan ose lurus kemudian diambil 1 ose isolat fungi awal kemudian diisolasi ke medium PDA⁷

d. Pemeriksaan Makroskopik

Setelah pemurnian isolat fungi endofit dilakukan pengamatan makroskopik

meliputi pemeriksaan bentuk, tepian, dan elevasi dari fungi endofit⁷.

e. Pemeriksaan mikroskopik

Untuk pengamatan secara mikroskopik, dilakukan dengan pembuatan preparat terlebih dahulu untuk dilakukan pengamatan. Cara pembuatan preparat yaitu, inokulumpada media agar diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose. Selanjutnya inokulum diletakkan dalam kaca objek steril yang sudah ditetaskan dengan media PDA. Kaca objek ditutup dengan cover glass kemudian diletakkan secara perlahan. Kemudian preparat ditetesi dengan alkohol 96%, lalu ditetesi dengan methylene blue sebanyak satu tetes dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x, 200x, dan 400.

f. Uji skrining

Pada uji skrining aktivitas antibiotika isolat fungi endofit diinokulasikan ke dalam medium NA yang berisi bakteri uji, dimana isolat tersebut ditempelkan di atas permukaan media. Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C lalu diamati zona hambat yang terbentuk. Isolat yang memberikan aktivitas yang paling baik, kemudian diproduksi dalam jumlah yang besar dan dilanjutkan pada pengujian aktivitas KLT-Bioautografi.

Produksi Senyawa Antibiotik

Masing - masing spesies fungi endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibiotika difermentasikan dengan shake culture, namun sebelum dilakukan proses fermentasi terlebih dahulu dibuat inokulum dari fungi endofit tersebut. Inokulum dari fungi endofit sebanyak 50 mL, diinokulasikan ke dalam 200 mL media fermentasi. Fermentasi dilakukan selama 14 hari pada suhu kamar. Setelah proses fermentasi berakhir, fermentat dari supernatan dipisahkan dari miselia fungi dengan cara disentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar menggunakan kertas saring. Media fermentasi tersebut diekstrak dengan pelarut yang telah diskruining, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian digojok perlahan selama 5 menit. Setelah digojok, fermentat supernatan dan pelarut didiamkan beberapa saat untuk memisahkan bagian media dan pelarut yang telah tercampur selama proses penggojokan. Setelah dua bagian tersebut telah terpisah kembali, pelarut yang mengandung senyawa bioaktif terlarut dituang ke dalam cawan porselin, selanjutnya pelarut diuapkan untuk menghasilkan ekstrak⁷.

Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis KLT

Ekstrak kental fermentat isolat fungi diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan eluen yang sesuai. Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Kromatogram yang dihasilkan di amati di bawah Lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm diberi tanda dan dihitung nilai Rf-nya ⁸.

Pengujian Secara KLT-Bioautografi

Medium Nutrien Agar (NA) steril yang telah didinginkan sebanyak 10 ml diinokulasikan dengan bakteri yang peka sebanyak 0.5 ml dan dituang ke dalam cawan petri steril dan dilakukan secara aseptis. Setelah medium agak memadat, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium agar. Setelah 30 menit, lempeng tersebut dipindahkan. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan akan terlihat pada medium agar, dan dibandingkan dengan kromatogram hasil pengujian KLT ⁸.

Identifikasi Komponen Kimia

1. Uji Flavonoid

Untuk mendeteksi senyawa flavonoid ditotolkan sampel pada plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam chamber, setelah itu dielusi hingga tanda batas, diambil, dan dibiarkan hingga kering. Diamati bercak di bawah sinar UV. Ekstrak

mengandung flavonoid jika dilihat di bawah sinar UV 366 nm. Bercak berfluoresensi hijau/ berwarna biru atau kuning muncul jika menggunakan pereaksi Sitroborat dan berwarna merah- jingga atau kuning pucat muncul jika menggunakan pereaksi $AlCl_3$ ⁹.

2. Uji Saponin

Untuk mendeteksi senyawa saponin ditotolkan ekstrak pada plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam chamber, setelah itu dielusi hingga tanda batas, diambil, dan dibiarkan hingga kering. Disemprot dengan pereaksi H_2SO_4 10%. Ekstrak positif mengandung saponin jika warna orange/biru kehijauan muncul setelah disemprot dengan pereaksi H_2SO_4 10% ¹⁰

3. Uji Alkaloid

Untuk mendeteksi senyawa alkaloid ditotolkan sampel pada plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam chamber, setelah itu dielusi hingga tanda batas, diambil, dan dibiarkan hingga kering. Diamati bercak di bawah sinar UV dan disemprot dengan pereaksi Dragendorf. Ekstrak positif mengandung alkaloid jika warna coklat atau jingga-coklat muncul setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorf ⁹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan mengisolasi daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan metode yang digunakan yaitu menanam daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang telah dipotong kecil dan telah disterilkan dengan alkohol 70% dan dibilas dengan aquadest. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang berada di permukaan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) agar yang tumbuh itu adalah fungi yang berasal dari jaringan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). adapun medium yang digunakan untuk mengisolasi fungi endofit adalah medium PDAC (*potato Dextrose Agar* ditambah Kloramfenikol). Penggunaan kloramfenikol ini dimaksudkan untuk mencegah pertumbuhan bakteri dalam medium. Medium PDA sendiri media yang terdiri atas dextrose, sari kentang dan agar yang mendukung pertumbuhan jamur karena dapat menghindari kontaminasi bakteri dengan keasaman pada media yang rendah (pH 4,5 sampai 5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan pH 7,0¹¹.

Dari hasil isolasi fungi endofit pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang telah diinkubasi selama 3 hari, diperoleh 10 koloni fungi yang dilanjutkan dengan pemurnian isolat menggunakan metode cawan gores

yang dimana pemurnian isolat fungi ini bertujuan untuk memisahkan hasil inokulasi yang terdiri dari banyak koloni yang berlainan jenis sehingga didapatkan koloni murni dari isolat daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada setiap biakan. Koloni yang diambil untuk dimurnikan yaitu koloni yang dominan. Dengan kata lain pemurnian ini dilakukan untuk memperoleh isolat yang tunggal pada tiap isolat yang berbeda.

Hasil dari pemurnian kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik untuk memperoleh isolat fungi yang berbeda dengan yang lainnya. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui bagian luar, ukuran, warna, dan struktur pada koloni yang tumbuh.

Setelah dilakukan pengujian karakteristik mikroskopik isolat fungi endofit, didapatkan hasil isolat fungi daun bandotan tersebut termasuk ke dalam filum/ divisi *Ascomycota*. Menurut Ayunisa *et al* (2020), *Ascomycota* memiliki ciri-ciri yaitu tubuhnya terdiri dari miselium dengan hifa yang bersepta (bersekat), umumnya hidup ditempat berair, memiliki sifat parasit pada tumbuhan atau saprofit pada sampah, sporanya terdapat pada kantong-kantong

Tabel 1. Hasil pemeriksaan makroskopik isolat fungi pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Kode Sampel	Bentuk koloni	Bentuk Tepi	Bentuk Elevasi	Warna Koloni
IFDB 1	Round with raised margin	Wooly	Flat	Putih
IFDB 2	L-Form	Smoth	Convex	Hitam, Kemerahan
IFDB 3	Filiform	Wafy	Convex	Putih
IFDB 4	Round	Wafy	Convex	Putih
IFDB 5	Flamentous	Branching	Hilly	Putih
IFDB 6	Flamentous	Branching	Hilly	Putih
IFDB 7	L-Form	Wooly	Convex	Hitam
IFDB 8	Filiform	Branching	Hilly	Putih
IFDB 9	Rhizoid	Branching	Hilly	Putih
IFDB 10	Round with raised Margin	Branching	Hilly	Hitam

Tabel 2. Hasil pemeriksaan mikroskopik isolat fungi pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Kode Sampel	Hifa	Spora	Filum	Genus
IFDB 1	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 2	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 3	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 4	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 5	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 6	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 7	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 8	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 9	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>
IFDB 10	Bersekat	Ada	<i>Ascomycota</i>	<i>Daldinia sp.</i>

penyimpanan yang disebut konidia (askus)¹².

Kemudian setelah melakukan pemeriksaan mikroskopik dilakukan pengujian skrining antibiotika untuk memperoleh isolat yang paling memiliki potensi sebagai antibiotika. Pengujian skrining antibiotika isolat fungi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar, terhadap 9 bakteri uji yaitu *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*

epidermidis, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholerae*. Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba dengan mengamati daerah zona bening yang terdapat disekitar isolat, yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar. Hasil pengujian skrining dapat dilihat pada Tabel 3

Setelah melakukan uji skrining aktivitas antibiotika yang dimana didapatkan 3 isolat dengan daya hambat yang tinggi yaitu isolat IFDB 1, IFDB 2 & IFDB 4 berdasarkan pengelompokan

Tabel 3. Hasil pengujian skrining aktivitas antibiotika isolat fungi endofit daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri uji

Kode Isolat	Diameter Rata-rata Zona Hambat (mm)								
	<i>S.typhi</i>	<i>V.cholerae</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.epidermis</i>	<i>P.acnes</i>	<i>S.dysenteriae</i>	<i>S.aureus</i>
IFDB1	-	16,13	-	-	-	-	-	-	-
IFDB2	14,81	14,49	16,37	12,25	-	9,39	-	15,32	10,94
IFDB3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFDB4	-	10,42	-	8,46	-	-	-	-	-
IFDB5	-	8,80	8,79	-	6,7	-	-	-	-
IFDB6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFDB7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFDB8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFDB9	-	-	8,05	7,2	-	-	-	-	6,23
IFDB10	9,30	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabel 4. Nilai Rf dari Uji KLT-Bioautografi Isolat Fungi Endofit Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Kode	Nilai Rf	Bakteri Uji yang dihambat	Warna pada UV 366 nm
IFDP 1	0,74	<i>Vibrio cholerae</i>	Ungu berpendar
IFDP 2	0,67	<i>S. thypi, V. cholerae, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, S. disenteriae, S. epidermidis</i>	Ungu berpendar
IFDP 4	0,74	<i>V. cholerae, P. aeruginosa</i>	Ungu berpendar

kekuatab daya antibakteri oleh Davis dan Stout 2005, menyatakan bahwa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang kuat yaitu pada diameter zona hambat 10 – 20 mm dan hambatan pertumbuhan bakteri yang sangat kuat yaitu diatas 20 mm.

Ekstrak fermentat isolate daun bandotan yaitu IFDP 1, IFDP 2 & IFDP 4 kemudian dielusi dengan cairan pengelusi kloroform : metanol dengan perbandingan (4:2) hingga batas tanda, hal ini dikarenakan masing- masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda yang dapat memisahkan proses kromatografi. Selanjutnya didapatkan hasil dari pengujian aktivitas antibiotik dari ekstrak fermentat isolat fungi endofit daun bandotan dengan kode isolat IFDP 1 diperoleh bercak dengan nilai Rf 0,74 pada bakteri *Vibrio cholerae*, isolat dengan kode IFDP 2 diperoleh bercak dengan nilai Rf 0,67 yang dapat menghambat bakteri *S. thypi, V. cholerae, E. coli, P. aeruginosa,*

S. aureus, S. disenteriae, dan *S. epidermidis*, sedangkan isolat dengan kode OFDP 4 diperoleh bercak dengan nilai Rf 0,74 yang mampu menghambat bakteri *V. cholerae* dan *P. aeruginosa* Dilihat pada nilai Rf isolat tersebut aktif sebagai antibiotik yang ditandai dengan terbentuknya zona hambatan.

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa fermentat isolat fungi endofit daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas terhadap bakteri uji dan memiliki potensi sedang dengan diameter zona hambat bekisar 5-10 mm. Menurut Herlina et al, 2018 menyatakan bahwa pebedaan kemampuan suatu fermentat dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh sifat dari dinding sel bakteri karena bakteri gram negatif dan gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim, dan antibiotik¹³. Bakteri gram positif memiliki dinding sel tunggal dengan

Tabel 5. Hasil identifikasi golongan komponen kimia aktif pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Komponen Kimia	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	AlCl ₃	(+)
Alkaloid	Dragendrof	(+)
Saponin	Asam Sulfat	(+)

kandungan lipida 1-4% sedangkan pada bakteri gram negatif dinding sel berlapis tiga yang terdiri dari lipoprotein, membran luar fosfolipid, lipopolisakarida, dan kandungan lipid pada dinding sel sekitar 11-22%. Membran luar fosfolipid tersebut yang menyebabkan komponen kimia yang terkandung dalam fermentat yang bersifat sebagai antibakteri sulit menembus dinding sel bakteri gram negatif¹³

Pengujian selanjutnya, yaitu mengidentifikasi golongan komponen kimia yang terkandung didalam daun bandotan dengan metode penyemprotan pada lempeng KLT yang sebelumnya telah ditotolkan ekstrak fermentat dan dielusi dengan eluen kloroform : metanol (4:2). Berdasarkan hasil penyemprotan pada lempeng KLT dapat diketahui senyawa kimia yang menampakkan noda dengan penyemprotan menggunakan larutan-larutan spesifik untuk identifikasi yaitu pada sampel daun bandotan, saponin setelah disemprotkan pereaksi asam sulfat terdapat bercak orange atau biru - kehijauan, alkaloid setelah disemprotkan

pereaksi Dragendorff terdapat bercak coklat dan jingga-coklat, dan pada flavonoid setelah disemprotkan. pereaksi AlCl₃ dan diamati pada UV 366 nm terdapat bercak kuning pucat.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak fermentat isolat fungi endofit daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antibiotik yang berpotensi terhadap beberapa jenis bakteri patogen. Profil bioautografi menunjukkan bahwa isolat IFDP 1 memiliki nilai Rf 0,74 pada bakteri *Vibrio cholerae*, sedangkan isolat IFDP 2 memiliki nilai Rf 0,67 pada beberapa jenis bakteri seperti *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Shigella disenteriae*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Isolat IFDP 4 juga memiliki aktivitas antibiotik dengan nilai Rf 0,74 pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio cholerae*. Komponen kimia aktif yang terkandung dalam isolat fungi endofit daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) adalah flavonoid, alkaloid, dan saponin

yang diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi $AlCl_3$, $AlCl_3$, dan asam sulfat. Oleh karena itu, isolat fungi endofit daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) berpotensi sebagai sumber antibakteri alami yang dapat digunakan dalam pengembangan obat-obatan antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Zulyetti. Diana. Studi Pengetahuan Siswa Terhadap Jenis, Khasiat Dan Cara Pemanfaatan Tanaman Obat Yang Terdapat Di Lingkungan Sekolah. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*. 2019; 2(2):122–132
- Khare P, Goswami R, Khare S, Pathak A. Evaluation of Wound Healing Activity of *Ageratum Conyzoides* Linn. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2009; 1(3):217–219
- Atihsa SA, Mita SR. Review : Herban Bandotan (*Ageratum Conyzoides* L.) Sebagai Pengobatan Luka Terbuka. *Farmaka.*; 16(3). DOI: 10.24198/JF.V16I3.17419.G8974
- Strobel GA et al. Cryptocandin, a Potent Antimycotic from the Endophytic Fungus *Cryptosporiopsis* Cf. *Quercina*. *Microbiology (Reading)*. 1999; 145 (Pt 8)(8):1919–1926
- Rollando. *Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit*. 1st ed. Malang: Seribu Bintang, URL: www.fb.com/cv.seribu.bintang. (2019, accessed 22 April 2023)
- Fitriana S, Maryam T, Naid M. Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (*Ananas Comosus* (L) Meer). *As-Syifaa.*; 08(01)
- Yunus M. Isolasi Fungi Endofit Dari Daun Yodium (*Jatropha Multifida* L.) Sebagai Antibiotika Dan Antiradikal Bebas'. *Skripsi*. Makassar: Universitas Muslim Indonesia. 2015
- Asnita A, Herwin H, Kosman R, Nurung AH. Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Batang Sesuru (*Euphorbia Antiquorum* L.) Sebagai Penghasil Antibakteri Dengan Metode KLT-Bioautografi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*. 2021; 12(2):144–149
- Handayani V et al. Standardization and Bacteria Inhibitory Test of Purified Extract of Mahogany (*Swietenia Mahagoni* (L.) Jacq) Seeds and Leaves. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2019; 10(3):2132–2138
- Yumita, Razak AR, Indriani, Bahri S. Analisis KLT-Bioautografi Ekstrak Kulit Batang Tanaman Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Shigella Dysenteriae*. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 2019; 5(2):191–196
- Gandjar, Gholib I, Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 2007
- Ayunisa S, Naemah D, Payung D. Inventarisasi Jamur Makroskopis Di KHDTK (Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus) Universitas Lambung Mangkurat. *Jurnal Sylva Scientiae*. 2020; 3(5):945–953
- Rante H et al. Isolation of Sponge Bacterial Symbionts from Kodingareng Keke Island-Makassar Indonesia Which Is Potential as a Producer of Antimicrobial Compounds. *J Pure Appl Microbiol*. 2022; 16(1):737–743