

**SKRINING DAN ISOLASI METABOLIT AKTIF ANTIBAKTERI
KULTUR JAMUR ENDOFIT DARI TUMBUHAN *Albertisia papuana* Becc.*
[Screening and Isolation of Antibacterial Active Metabolite
from the Culture of Endophytic Fungi from *Albertisia papuana* Becc.]**

**Ahmad Fathoni^{1,2}, Muhammad Ilyas¹, Praptiwi¹, Antonius Herry Cahyana²,
dan Andria Agusta¹✉**

¹Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Jln Raya Bogor Km 46, Cibinong 169011;

²Pascasarjana Ilmu Kimia, FMIPA-Universitas Indonesia, Kampus UI Depok, 16424;

E-mail: andria.agusta@lipi.go.id

ABSTRACT

Totally 15 isolates of endophytic fungi were obtained from leaves and young stems of a medicinal plant *Albertisia papuana* Becc. (Menispermaceae). The antibacterial screening of the ethyl acetate extract derived from the fungi cultures in potato dextrose broth (PDB) were performed on a non eluted Thin Layer Chromatography Bioautography assay (TLC bioautography assay). From the screening test, it was found that the ethyl acetate extract of the fungus *Xylaria* sp. DAP-KRI-5 culture showed strong antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The isolation of active metabolite based on the bioautography guided assay from ethyl acetate extract of the *Xylaria* sp. DAP-KRI-5, led us to identify phloroglucinol as a main antibacterial compound. The chemical structure of phloroglucinol was deduced from its spectral data, including UV-Vis, ¹H and ¹³C-NMR, GC-MS and published data elsewhere.

Key Words: TLC Bioassay, antibacterial compounds, *Albertisia papuana* Becc., endophytic fungi, phloroglucinol.

ABSTRAK

Sebanyak 15 isolat jamur endofit berbentuk filamen telah diisolasi dari daun dan batang tumbuhan *Albertisia papuana* Becc. (Menispermaceae). Skrining aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat kultur jamur endofit di dalam medium cair *potato dextrose broth* (PDB) tersebut dilakukan secara *Thin Layer Chromatography bioautography assay* (TLC *bioautography assay*) yang tidak dielusi. Hasil skrining memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat dari kultur jamur endofit *Xylaria* sp. DAP-KRI-5 memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolasi senyawa aktif antibakteri dari ekstrak etil asetat kultur *Xylaria* sp. DAP-KRI-5 melalui pendekatan *bioautography guided assay*, berhasil diidentifikasi bahwa floroglusinol adalah senyawa bioaktif antibakteri utama. Struktur kimia dari senyawa floroglusinol diidentifikasi berdasarkan interpretasi data spektra UV-Vis, ¹H dan ¹³C-NMR, GC-MS dan data terpublikasi.

Kata Kunci: TLC Bioassay, senyawa antibakteri, *Albertisia papuana* Becc., jamur endofit, floroglusinol.

PENDAHULUAN

Selama ini, produk bahan alam telah digunakan secara langsung sebagai obat dan arsitektur dasar kimia untuk turunan dari obat. Produk bahan alam merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan, hewan, dan juga mikroorganisme. Selama ribuan tahun produk bahan alam tersebut dieksploitasi oleh manusia sebagai bahan baku obat. Badan administrasi obat dan makanan Amerika (*Food and Drug Administration/FDA*) dari 1981 sampai 2006 telah menyetujui 1.184 obat baru dan sekitar 609 buah (51,4%) berkaitan dengan produk bahan alam (Newman dan Cragg, 2007).

Banyak penelitian dilakukan untuk mencari sumber baru dari metabolit sekunder. Mikroorganisme termasuk jamur dapat menjadi sumber produk bahan alam dengan sifat yang bioaktif, termasuk sebagai antibakteri. Jamur endofit

telah banyak digunakan sebagai sumber baru dari produk bahan alam yang menarik, sebab jamur endofit dapat menghasilkan komponen yang berkontribusi pada tumbuhan inangnya yang kemungkinan potensial digunakan untuk pengobatan modern, agrikultur, dan industri (Ribeiro *et al.*, 2012). Produk bahan alam dari mikroba endofit mempunyai kemampuan menghambat dan juga membunuh beragam mikroorganisme patogen tidak terbatas pada *phytopathogen*, juga terhadap bakteri, jamur, virus dan protozoa yang menginfeksi manusia dan hewan (Strobel *et al.*, 2005).

Tumbuhan inang, dipilih *Albertisia papuana* Becc. yang termasuk marga/genus Menispermaceae merupakan tumbuhan tropis yang banyak dijumpai di wilayah Indonesia, misalnya: Sulawesi, Jawa, Maluku, Kalimantan, dan Papua. Tumbuhan *A. papuana* dikenal dengan nama lokal Bekai, Mekai,

Sukang, Balait dan Sungkai Sayur (Susiarti dan Setyowati, 2005), yang berpotensi sebagai antimalaria, menghambat terhadap pertumbuhan sel tumor, antibakteri, antijamur dan antihipertensi (Zhou *et al.*, 2011; Frappier *et al.*, 2005).

Publikasi yang berkaitan dengan jamur endofit dari *Albertisia papuana* Becc. belum banyak ditemukan, sehingga untuk itu dilakukan penelitian potensi jamur endofit dari *A.papuana* sebagai penghasil senyawa bioaktif antibiotik/antibakteri berdasarkan metode *TLC Bioassay* dan menentukan struktur kimianya.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan berupa batang dan daun *A. papuana* dikoleksi dari Kebun Raya Bogor, Jawa Barat pada Agustus 2012. Identifikasi jenis dilakukan di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi, LIPI.

Mikroorganisme

Staphylococcus aureus LIPIMC 114 dan *E.coli* LIPIMC 186, koleksi bidang Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong, Bogor.

Isolasi Jamur Endofit

Sampel *A. papuana* segar dicuci dengan air sampai bersih. kemudian disterilisasi permukaannya dengan cara merendam dalam 75% etanol selama 2 menit, 5,3% natrium hipoklorit selama 5 menit dan kemudian dengan 75% etanol selama setengah menit. Batang dan daun yang telah disterilkan permukaannya tersebut kemudian dipotong dengan ukuran 1x1 cm², dan selanjutnya ditaruh di atas medium *Corn-Meal Malt Agar* (CMMMA) yang mengandung kloramfenikol (0,05 mg/ml), lalu diinkubasi pada suhu 27 °C selama 1 minggu. Setelah tumbuh, setiap koloni jamur selanjutnya ditransfer beberapa kali ke medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) sampai diperoleh koloni tunggal (Agusta *et al.*, 2005). Seluruh isolat jamur endofit yang diperoleh dipreservasi di Indonesian Culture Collection (InaCC), Pusat Penelitian Biologi-LIPI.

Ekstraksi Jamur Endofit

Keseluruhan jamur endofit yang telah diisolasi ditumbuhkan di dalam tabung reaksi 100 ml yang berisikan 30 ml medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Setelah diinkubasi selama 3 minggu pada suhu 27 °C, masing-masing diekstrak dengan etil asetat 20 mL sebanyak tiga kali, selanjutnya sampel dianalisis dengan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada plate silika GF₂₅₄ (Merck), eluen diklorometan-metanol (10:1) dengan penampak noda 1 % CeSO₄ dalam 10 % H₂SO₄.

TLC Bioassay Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit

TLC bioassay dilakukan secara langsung/*directs*, yaitu diawali dengan menyiapkan plate TLC yang sudah ditransfer sebanyak 100 µg ekstrak etil asetat masing-masing berupa satu spot, selanjutnya dicelupkan pada media *broth* yang mengandung inokulan bakteri sebanyak 10⁶ cfu/mL, selanjutnya dipindahkan ke petri dish steril, di kanan-kiri plate ditempatkan kapas steril yang basahi aquades steril, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam dan disemprot dengan *Iodonitro Tetrazolium* (INT) sehingga dihasilkan zona hambat putih dengan adanya pertumbuhan bakteri yang berwarna jingga.

Identifikasi Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diisolasi dan dimurnikan kemudian diidentifikasi. Identifikasi jamur endofit dilakukan dengan mengamati ciri dan karakter morfologi baik secara makroskopis maupun secara mikroskopis. Identifikasi morfologi jamur berdasarkan panduan Kobayashi (1970), Ellis (1971), Sutton (1980) serta Barnett dan Hunter (1998). Identifikasi morfologi dilakukan dengan menumbuhkan kultur jamur endofit pada media PDA dan diinkubasi pada suhu 27° C hingga 1 bulan. Untuk pengamatan mikroskopis, koloni jamur dibuat preparat dengan menggunakan larutan laktofenol dan gelas obyek. Secara makroskopis karakter morfologi yang diamati meliputi warna dan permukaan koloni, tekstur, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, warna balik koloni (*reverse color*), dan tetes eksudat (*exudate drops*). Pengamatan secara

mikroskopis meliputi; ada tidaknya septa pada hifa, pigmentasi hifa, *clamp connection*, bentuk dan ornamentasi spora (vegetatif dan generatif), bentuk dan ornamentasi tangkai spora, dan lainnya.

Scaling-up Jamur endofit terpilih

Jamur endofit terpilih (DAP KRI-5) ditumbuhkan di dalam 5 buah Erlenmeyer berukuran 4 L yang masing-masing berisikan 500 ml medium PDB, dan 1 buah erlenmeyer berukuran 500 mL berisikan 200 mL dan diinkubasi pada suhu 27 °C selama 3 minggu. Seluruh medium tumbuh berikut miselia DAP KRI-5 diekstraksi dengan etil asetat dan kemudian dipisahkan dengan penguap putar, dan dari 2,7 L diperoleh 2,7887 g ekstrak.

Isolasi Metabolit Bioaktif dan Penentuan Struktur Kimia

Pemisahan dilakukan dengan teknik kromatografi kolom: (i). Sephadex LH-20 (Metanol); (ii) SiO₂, n-heks-EA=10:1~1:1), dan diperoleh F4.3 murni sebanyak 33,4 mg atau 20,43 % dari berat ekstrak.

Analisis ¹H- dan ¹³C-NMR diukur dengan spektrometer JEOL JNM-Lambda 500 yang dioperasikan pada 500 MHz untuk ¹H-NMR dan 125 MHz untuk ¹³C-NMR dengan pelarut *d*₄-CH₃OH. Perekaman spektrum UV-Vis menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis (UV-1700 series) dalam pelarut metanol.

Perekaman spektrum massa menggunakan instrumen GC-MS (Varian-3900, GC/MS/MS Saturn 2000, CP-8400 autosampler) dengan fase diamnya VF-17MS panjang kolom 30 m dan diameter 0,25 mm. Gas pembawa helium dengan tekanan 20 Psi, volume injeksi : 4.0 µL, suhu injector 230 °C, awal split ratio 30 dan waktu 0.01 menit split ratio 30, laju alir 2 mL/menit, suhu kolom diprogram dari 50 °C

sampai 250 °C dengan dua tahap kenaikan. Suhu awal 50 °C dipertahankan 5 menit, selanjutnya suhu dinaikkan menjadi 150 °C dengan laju kenaikan 10 °C/menit. Selanjutnya suhu dinaikkan menjadi 250 °C dengan laju kenaikan 5°C/menit. Selanjutnya pada suhu 250 °C dipertahankan selama 15 menit.

HASIL

Isolasi, Kultivasi Jamur Endofit dan Skrining Antibakteri

Isolasi endofit dari tumbuhan *A. papuana* terisolasi 15 jamur endofit, yang terdiri atas tujuh isolat jamur endofit berasal dari bagian daun dan delapan isolat jamur endofit berasal dari bagian batang yang ditumbuhkan pada media PDA.

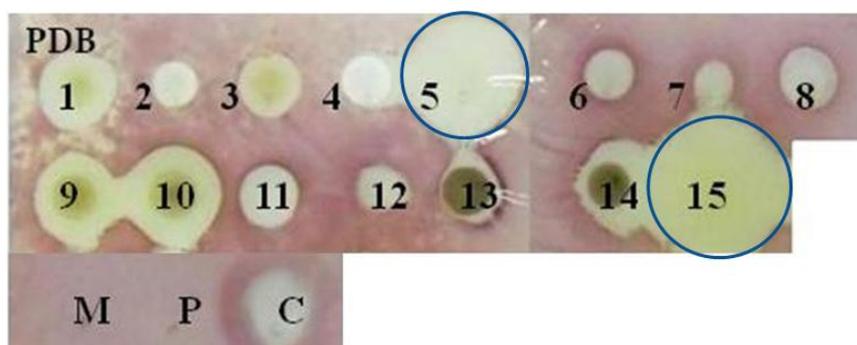
Isolat jamur endofit yang dikultivasi pada 30 mL media PDB sampai 3 minggu, selanjutnya diekstrak dengan pelarut organik berupa etil asetat (EtOAc) sebanyak 3 kali dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kering dengan berat seperti terlihat pada Tabel 1. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan KLT menggunakan eluen diklorometan-metanol (10:1) disemprot dengan *reagent* penampak noda vanillin. Hasil analisis KLT ini memperlihatkan pola kromatogram yang berbeda satu sama lain untuk setiap ekstrak. Terdapat dua isolat jamur endofit yang memberikan produk ekstrak yang relatif cukup tinggi yaitu isolat BAP KRI-4 (1383,33 mg/L) dan isolat *Xylaria* sp. DAP-KRI-5 (1153,33 mg/L).

Hasil skrining antibakteri terhadap masing-masing ekstrak (100 µg/spot) memperlihatkan bahwa aktivitas antibakteri yang bervariasi. Terdapat dua jenis ekstrak yang berasal dari kultur *Xylaria* sp. DAP KRI-5 dan BAP KRI-8 yang memberikan aktivitas antibakteri paling kuat terhadap *S. aureus* dengan zona hambat 15 dan 19 mm berturut-turut seperti terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Produksi ekstrak EtOAc kultur jamur endofit yang diisolasi dari *A. papuana* dan aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus*.

No.	Kode Isolat	Berat Ekstrak (mg/L)	Diameter Daerah Hambat (mm)
1	DAP KRI-1	213,33	9
2	DAP KRI-2	736,67	5
3	DAP KRI-3	696,67	8
4	DAP KRI-4	443,33	6
5	DAP KRI-5	1153,33	15
6	DAP KRI-6	513,33	6
7	DAP KRI-7	650,00	4
8	BAP KRI-1	916,67	8
9	BAP KRI-2	430,00	11
10	BAP KRI-3	413,33	12
11	BAP KRI-4	1383,33	7
12	BAP KRI-5	640,00	6
13	BAP KRI-6	640,00	6
14	BAP KRI-7	223,33	10
15	BAP KRI-8	373,33	19

Ket.: Media tumbuh 30 mL PDB, usia 3 minggu.



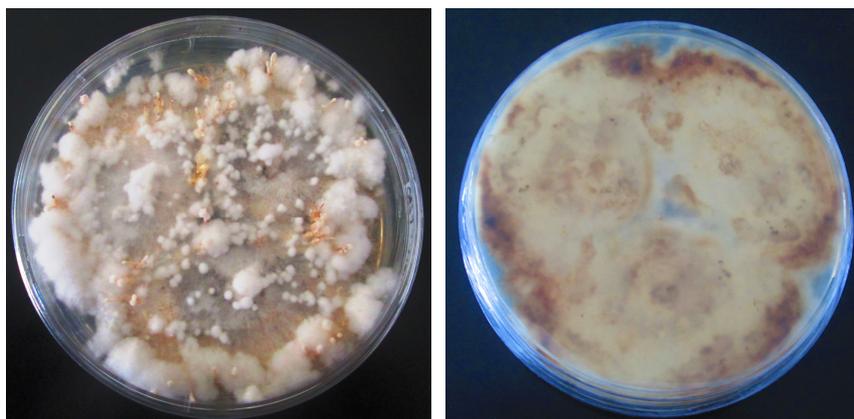
Gambar 1. Aktivitas Antibakteri terhadap *S. aureus* dengan metode bioautografi/TLC bioassay.

Ket.: No.1-7 : *Xylaria* sp. DAP KRI 1-7 (100 µg), No.8-15 : BAP KRI 1-8 (100 µg), M : kontrol pelarut : aseton (10 µL), P : kontrol media (10 µL), C: kontrol positif kloramfenikol (1µg).

Identifikasi Jamur Endofit Terpilih

Secara makroskopis isolat DAP-KRI-5 memiliki miselia rata atau hingga seperti kapas, zonasi tidak teratur, miselia awalnya berwarna putih dan berubah menjadi krem kecoklatan, tepi koloni berwarna putih, tetes eksudat terbentuk di ujung

miselia aerial, sebalik koloni krem kecoklatan (Gambar 2). Stromata terbentuk setelah 3 minggu inkubasi, berwarna jingga kecoklatan, terbentuk di tengah atau tepi koloni, silindris, tidak bercabang. Secara mikroskopis hifa bersepta, transparan, dan beberapa terbentuk hifa stromatik. Selama 1 bulan



Gambar 2. Penampakan maroskopis muka koloni dan sebalik koloni isolat jamur endofit terpilih *Xylaria* sp. DAP-KRI-5

inkubasi tidak terbentuk struktur reproduksi seksual/aseksual berupa spora/ konidia. Berdasarkan karakter morfologi di atas maka dapat diidentifikasi bahwa jamur endofit DAP KRI-5 termasuk ke dalam genus *Xylaria*, dan disebut dengan *Xylaria* sp. DAP KRI-5.

Scalling-up Kultivasi dan TLC Bioassay Jamur Endofit Terpilih

Ekstrak kultur jamur endofit BAP KRI-8 dan *Xylaria* sp. DAP KRI-5 adalah dua ekstrak yang memiliki zona hambat paling besar diantara ekstrak yang diujikan melawan *S. aureus*. Tetapi jika dilihat dari sisi produksi ekstrak atau metabolit, terlihat bahwa jamur endofit *Xylaria* sp. DAP KRI-5 mampu memproduksi metabolit dalam jumlah yang lebih banyak dibanding BAP KRI-8 (Tabel 1). Oleh karena itu penelitian selanjutnya lebih difokuskan untuk isolasi dan karakterisasi metabolit yang diproduksi oleh jamur endofit *Xylaria* sp. DAP KRI-5.

Dari Kultur *Xylaria* sp. DAP KRI-5 (2,7 L media PDB) didapatkan sebanyak 2,7887 g ekstrak etil asetat (EtOAc). Selanjutnya hasil analisis bioautografi ekstrak EtOAc dari *Xylaria* sp. DAP KRI-5 memperlihatkan bahwa pada nilai *Retention factor* (Rf) 0.1 – 0.7 terdapat zona bening. Hal ini mengindikasikan bahwa metabolit yang terdapat pada bercak dengan nilai Rf 0.1 - 0.7 tersebut memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* Gambar 3. Untuk selanjutnya target

metabolit difokuskan pada bercak yang memiliki nilai Rf antara 0.1 – 0.7 tersebut.



Gambar 3. Profil TLC dan TLC bioassay ekstrak *Xylaria* sp. DAP KRI-5.

Ket.: (A) bioautografi dengan bakteri *S. aureus*, (B) sampel disemprot penampak noda serum sulfat, (C) sampel disemprot penampak noda serum. 1 dan 3: ekstrak *Xylaria* sp. DAP KRI-5, 2 dan 4 : blanko, (D) fraksi dominan dan aktif.

Isolasi Metabolit Bioaktif

Sebanyak 1,6494 g ekstrak EtOAc *Xylaria* sp.DAP KRI-5 dipartisi secara partisi cair-cair menggunakan dua pelarut *n*-hexan dan methanol dengan volume yang seimbang, dan setelah dipekatkan didapatkan hasil partisi berupa fraksi *n*-heksan sebanyak 455,6 mg (26,39%) dan fraksi MeOH sebanyak 1270,8 mg (73,61%).

Selanjutnya sebanyak 584,7 mg fraksi MeOH dipisahkan dengan kromatografi kolom (Sephadex-LH20) yang dielusi dengan MeOH, memberikan F1-F5. Fraksi F4 (244,4 mg; 41,8%) yang merupakan fraksi paling dominan dan merupakan salah satu fraksi yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter daerah hambat 3,0, 3,5 dan 5,5 mm pada konsentrasi 25, 50 dan 100 µg/titik berturut-turut. Fraksi F4 ini juga memperlihatkan daerah hambat 3,5, 5,0 dan 8,5 mm pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri *E. coli* seperti terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. TLC Bioassay dari F4 sebagai antibakteri melawan *S.aureus* dan *E.coli*.

Ket.: (atas) à F4 dari kanan ke kiri berturut-turut : 100; 50; 25 µg, (bawah) à bakteri uji *E.coli*, F4 dari kiri ke kanan berturut-turut : 25; 50; 100 µg, bakteri uji *S. aureus*.

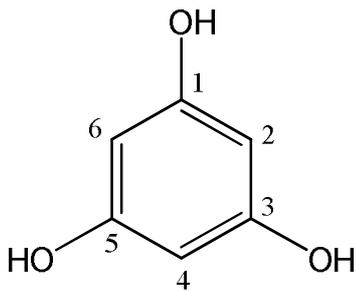
Permurnian F4 dengan kromatografi kolom (SiO_2 ; *n*-heksan-EtOAc = 2:1 ~ 1:5) menghasilkan F4.3 (33,4 mg) yang berbentuk amorf tidak berwarna. Senyawa F4.3 selanjutnya dikarakterisasi struktur kimianya dengan menggunakan RMI proton dan karbon, serapan UV-Vis, dan GC-MS.

Penentuan Struktur Kimia Metabolit Bioaktif

Senyawa F4.3 memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 268,5 mm pada spektrum UV-nya. Hal ini mengindikasikan terdapatnya gugus benzena pada molekul senyawa F4.3. Hasil analisis GC-MS memperlihatkan bahwa senyawa F4.3 menghasilkan spektrum dengan fragmen pada *m/z*: 52, 57, 74, 85, 111 dan 126. Fragmentasi dari data spektrum massa senyawa F4.3 menunjukkan bahwa *m/z* pada 126 (M^+) adalah ion molekul dengan kelimpahan 100% (puncak dasar). Fragmen pada *m/z* 111 merupakan ion molekul yang terfragmentasi berupa putusnya ion CH_3^+ (M-15 : M- CH_3). Sedangkan ion pada *m/z* 97 merupakan fragmentasi ion molekul yang berupa putusnya ion C_2H_5^+ (M-29 : M- C_2H_5). Ion fragmen pada *m/z* 85 adalah hasil fragmentasi ion molekul yang kehilangan ion CH_3O^+ (M-31 : M- CH_2OH), dan ion fragmen pada *m/z* 69 merupakan hasil fragmentasi ion molekul yang kehilangan ion $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^+$ (M-57 : M- $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHOH}$), serta ion dengan *m/z* sebesar 52 yaitu fragmentasi berupa putusnya C_3H_7^+ dan CH_3O^+ (M-74 : M- $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 + \text{CH}_2\text{OH})$). Hasil ini identik dengan hasil fragmentasi molekul floriglusinol (Gambar 4) dengan berat molekul 126 dan rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$.

Hasil analisis RMI proton senyawa F4.3 hanya memperlihatkan satu sinyal proton aromatik pada geseran kimia 5,79 ppm yang merupakan sinyal dari proton aromatik. Merujuk pada hasil analisis GC-MS yang mengindikasikan bahwa senyawa F4.3 memiliki 6 atom H, sedangkan pada spektrum proton RMI hanya terdeteksi satu sinyal pada geseran kimia 5,79 ppm merupakan indikasi bahwa terjadinya overlapping pada ketiga sinyal proton aromatik pada posisi atom C2, C4 dan C6. Sedangkan sinyal proton pada gugus hidroksi (-OH) tidak terdeteksi dikarenakan proton pada gugus hidroksi ini membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut metanol (Silverstein *et al.*, 2005) yang digunakan saat pengukuran spektrum RMI. Data pergeseran kimia untuk proton pada senyawa F4.3 ini lebih besar 0,35 ppm dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Lee

et al. (2009), karena adanya perbedaan pelarut yang digunakan yaitu dengan menggunakan pelarut lebih polar (metanol- d_4) akan bergeser lebih besar sekitar 0,3 ppm (Kosela, 2010). Sementara itu, spektrum RMI karbon memperlihatkan adanya dua sinyal atom karbon pada geseran kimia pada 95,6 dan 160,3 ppm. Atom karbon dengan geseran kimia yang berkisar sekitar 160 - 170 ppm umumnya merupakan atom karbon yang terikat dengan satu gugus hidroksi. Merujuk kepada berat molekul senyawa F4.3 ini yang didapatkan dari hasil analisis GC-MS yang memiliki 6 buah atom karbon, maka dapat disimpulkan bahwa masing-masing sinyal pada 95,6 dan 160,3 ppm tersebut merupakan overlapping dari tiga buah atom karbon pada posisi C1, C3, C5 dan C2, C4, C6 berturut-turut (Gambar 5).



Gambar 5. Struktur molekul kimia senyawa F4.3

PEMBAHASAN

Dari 15 isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun dan batang brotowali ini terlihat bahwa hanya dua ekstrak yang memperlihatkan aktivitas cukup kuat yang ditandai dengan luas zona being yang terbentuk pada plat uji. Kedua ekstrak tersebut adalah yang berasal dari kultur *Xylaria* sp. DAP KRI-5 dan BAP KRI-8. Namun jika dilihat dari sisi produksi ekstrak maka produksi ekstrak pada kultur *Xylaria* sp. DAP KRI-5 hampir 4 kali lipat ekstrak yang dapat diproduksi oleh jamur endofit BAP KRI-8. Hal inilah yang mendasari pemilihan kultur jamur endofit *Xylaria* sp. DAP KRI-5 untuk investigasi selanjutnya.

Dari penelitian ini telah dapat diketahui bahwa floroglusinol adalah metabolit utama yang

bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri ekstrak kultur jamur endofit *Xylaria* DAP KRI-5. Floroglusinol merupakan monomer unit pembangun florotannin, dan komponen fenolik yang dikenal dari alga coklat (Phaeophyceae), selain itu floroglusinol jugadapat diperoleh dari *Cystoseira discors* dan *Cystoseira tamariscifolia* (Sargassaceae) (Quéguineur *et al.*, 2012). Floroglusinol dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Hal ini ditunjukkan oleh penelitian Kang, *et al.* (2010) yang menyatakan adanya penurunan level ROS (*Reactive Oxygen Species*) intraseluler dan merusakkan komponen sel (lipida, DNA, dan protein) akibat induksi radiasi.

Jamur endofit *Xylaria* sp. DAP KRI-5 memiliki kemampuan untuk memproduksi floroglusinol sebesar 165,6 mg/L dalam waktu 3 minggu pada kultur statis pada temperatur ruang. Kemampuan produksi floroglusinol dari jamur endofit ini adalah sangat tinggi jika dibandingkan dengan kemampuan jamur endofit Coelomyceteous AFAS-F3 yang berasal dari akar tumbuhan *Arcangelesio flava* (L.) Merr., yaitu sebesar 14,9 mg/L (Jamal *et al.*, 2011). Floroglusinol ini juga telah dikenal sejak lama sebagai salah satu metabolit penting pada beberapa bakteri tanah dari marga *Pseudomonas*, terutama *Pseudomans fluorescens* dan tinjauan ulang tentang biosintesisnya juga telah dipaparkan dengan jelas oleh Yang dan Chao (2012).

KESIMPULAN

Di antara ke-15 isolat jamur yang telah diisolasi dari tumbuhan *A.papuana*, hanya isolat DAP KRI-5 dan BAP KRI-5 yang mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Pada ekstrak kultur jamur endofit DAP KRI-5, floroglusinol adalah senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakterinya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh proyek DIPA Pusat Penelitian Biologi-LIPI dan IFS dengan kontrak F-4613-2. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Ristek atas beasiswa pascasarjana

kepada penulis, serta kepada Andi Saptaji Kamal dan Hertina atas asistensinya di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A, S Maehara, K Ohashi, P Simanjuntak and H Shibuya. 2005.** Stereoselective Oxidation at C-4 of Flavans by the Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. Isolated from a Tea Plant. *Chem.Pharm. Bul.* **53(12)**, 1565-1569.
- Barnett HL and BB Hunter. 1998.** *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 218. 4th ed. Prentice-Hall, Inc. USA.
- Choma IM and Grzelak EM. 2011.** Bioautography detection in thin-layer chromatography. *J.Chromatogr.A*, **1218**, 2684-2691.
- Ellis MB. 1971.** *Dematiaceous Hyphomycetes*, 608. Commonwealth Mycological Institute. England.
- Frappier F, A Jossang, J Soudon, F Calvo, RP Philippe, S Ratsimanga-Uratsimamanga-Urverg, J Saez, J Schrevel and P Grellier. 2005.** Bisbenzylisoquinolines as Modulators of Chloroquine Resistance in *Plasmodium falciparum* and Multidrug Resistance in Tumor Cells *Cells*, **6(4)**, 285-287.
- Jamal Y, Praptiwi, A Fathoni dan A Agusta. 2011.** Bioproduksi floroglusinol oleh jamur endofit Coelomycetes AFAS-F3 yang diisolasi dari tumbuhan *Archangelisia flava* L. *Merr. Berk. Penel. Hayati* **16**, 169-172.
- Kang KA, R Zhang, S Chae, SJ Lee, J Kim, J Kim, J Jeong, J Lee, T Shin, NH Lee and JW Hyun. 2010.** Phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene) protects against ionizing radiation-induced cell damage through inhibition of oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. *Chemico-Biological Interactions*, **185**, 215-226.
- Kobayashi T. 1970.** *Taxonomic Studies of Japanese Diaphorthaceae with Special Reference to Their Life-Histories*, 242. Hokkaido University. Japan.
- Kosela S. 2010.** *Cara Mudah dan Sederhana Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Spektra data (NMR, Mass, IR, UV)*, 266. Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia. Depok.
- Lee WH, JS Kim and SC Kim. 2009.** Synthesis of Phloroglucinol Using Microwave-Assisted Reaction from TNT. *Bull. Korean Chem. Soc.* **30(12)**, 3105-3106.
- Newman DJ and GM Cragg. 2007.** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat.Prod.* **70**, 461-477.
- Quéguineur B, L Goya, S Ramos, MA Martín, R Mateos and L Bravo. 2012.** Phloroglucinol: Antioxidant properties and effects on cellular oxidative markers in human HepG2 cell line. *Food and Chemical Toxicology* **50**, 2886-2893.
- Ribeiro FPC, FCS Fonseca, IA Reis, IS Araújo, HM Kamida, A Branco and APT Uetanabaro. 2012.** *Xylariaceae Endophytic Fungi Metabolites Against Salmonella, Salmonella - A Diversified Superbug*, 122-137.
- Silverstein RM, FX Webster and DJ Kiemle. 2005.** *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th Edition, 550. John Wiley & Son. USA.
- Strobel G, B Daisy and U Castillo. 2005.** The biological promise of microbial endophytes and their natural products. *Plant Pathology Journal* **4(2)**, 161-176.
- Susiarti S dan FM Setyowati. 2005.** Bahan Rempah Tradisional dari Masyarakat Dayak Kenyah di Kalimantan Timur. *Biodiversitas* **6(4)**, 285-287.
- Sutton BC. 1980.** *The Coelomycetes*, 696. Commonwealth Mycological Institute. England.
- Yang F and Y Cao. 2012.** Biosynthesis of phloroglucinol compounds in microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **93**, 487-495.
- Zhou JJ, G Xie and X Yan. 2011.** *Encyclopedia of Molecular Structures, Pharmacological Activities, Natural Sources and Applications Traditional Chinese Medicines* **3**, 47. Isolated Compounds H-M. Springer.