

AKTIVITAS ANTIBAKTERI, KANDUNGAN TOTAL FENOL DAN ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR ENDOFIT DAUN TERATAI (*Nymphaea nouchali* Brum. F)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY, TOTAL PHENOL CONTENT AND TLC-BIOAUTOGRAPHY ANALYSIS OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF LEAVES ENDOPHYTE FUNGI (*Nymphaea nouchali* Brum. F)

Agnes Rendowaty^{1*}, Okta Novitasari¹, Detha Meliyani¹, Alda Sanita¹, Dewi Fatmayuni¹, Yunita Listiani Imanda¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Jalan Ariodilah 3, No 22A, Palembang, Sumatera Selatan, 30128

*Email Corresponding: arendowaty@gmail.com

Submitted: January 2, 2023

Revised: November 25, 2023

Accepted: January 3, 2024

ABSTRAK

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang berada didalam jaringan inang tanaman, yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas antibakteri. Ekstrak etil asetat jamur endofit daun teratai G1, G2, G3 dan G4 diperoleh dengan kultivasi menggunakan medium beras. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan total fenol dan profil pemisahan komponen senyawa dalam menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat jamur G1, G2, G3 dan G4. Penentuan kandungan total fenol menggunakan metode Folin-ciocalteau dengan baku standar asam galat. Kandungan total fenol ekstrak etil asetat isolat jamur endofit G1, G2, G3, G4 berturut adalah 69,75 mg GAE/gram, 30,90 mg GAE/gram, 33,11 mg GAE/gram, 43,31 mg GAE/gram. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat G1, G2 G3 dan G4 memiliki profil pemisahan yang berbeda-beda, hasil uji KLT bioautografi diperoleh zona daya hambat dari beberapa Rf komponen dan teridentifikasi sebagai senyawa golongan fenol.

Kata kunci : folin ciocalteau; KLT; bioautografi; fenol.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms in plant host tissues and contain secondary metabolites with antibacterial bioactivity. Ethyl acetate extracts of lotus leaf endophytic fungi G1, G2, G3, and G4 were obtained by cultivation with rice medium. The purpose of this study was to determine the total phenolic content, separation profile of the extract compounds, and the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* using the TLC-Bioautography method of ethyl acetate extract of fungi G1, G2, G3, and G4. Determination of total phenolic content using the Folin ciocalteau method with gallic acid as a standard. The total phenolic content of ethyl acetate extract of endophytic fungi isolates G1, G2, G3, G4 were 69.75 mg GAE/gram, 30.90 mg GAE/gram, 33.11 mg GAE/gram, 43.31 mg GAE/gram. TLC-Bioautography of the ethyl acetate extracts G1, G2 G3 and G4 had different separation profiles. The bioautographic TLC test results obtained zones of inhibition of several Rfs and identified them as phenol group compounds

Keywords: folin ciocaltaeau, TLC, bioautograph, phenol.

PENDAHULUAN

Jamur endofit yang diisolasi dari tanaman berpotensi menghasilkan banyak metabolit sekunder dengan struktur yang beragam (Liu and Liu, 2018). Senyawa bahan alam dari jamur endofit memiliki berbagai aktivitas, termasuk antibakteri dan antioksidan (Fathoni *et al.*, 2022). Isolat jamur sebanyak 210 telah diisolasi dari daun, kelopak, batang dan benang sari tanaman *N. lotus* dan *N. stellata* dengan aktivitas antimikroba (Supaphon *et al.*, 2018). Genus *Nymphaea* merupakan tanaman air yang digunakan sebagai pangan fungsional (Selvakumari *et al.*, 2016). *Nymphaea nouchali* telah digunakan dalam pengobatan ayurveda untuk diabetes, penyakit kulit, radang, gangguan hati dan tonik (Parimala and Shoba, 2014).

Senyawa golongan fenol dan polifenol merupakan metabolit sekunder yang secara alami berasal dari jalur shikimat dan jalur asetat atau malonat untuk menghasilkan fenol dengan aktivitas fisiologis luas pada tanaman (Lattanzio, 2014). Senyawa polifenol pada tumbuhan telah menarik perhatian karena sifat antioksidannya yang kuat dan aktivitasnya dalam pencegahan berbagai penyakit terkait stres oksidatif (Dai and Mumper, 2010).

KLT-bioautografi merupakan kombinasi metode kromatografi dan kontak bioautografi untuk mendeteksi skrining aktivitas antibakteri dan antijamur komponen senyawa (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016). Tiga teknik bioautografi untuk mengetahui aktivitas antimikroba adalah : difusi agar, bioautografi langsung pada plat KLT, dan *overlay* agar. Difusi agar (bioautografi kontak) merupakan teknik difusi senyawa antimikroba dari plat KLT ke agar yang telah diinokulasi mikroorganisme. Bioautografi langsung merupakan teknik dimana plat KLT yang telah dielusi disemprot dengan suspensi mikroorganisme, sedangkan teknik overlay-agar menggunakan plat KLT yang telah dielusi kemudian letakkan diatas agar yang telah diinokulasi (Marston, 2011).

Empat jamur endofit telah diisolasi dari daun teratai (*Nymphaea nouchali* Burm. F) dan dikultivasi dengan medium beras selama 28 hari kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Hasil skrining kandungan metabolit sekunder ekstrak etil asetat isolat jamur G1, G2, G3 dan G4 mengandung alkaloid dan fenolik. Tujuan penelitian ini adalah penentuan kandungan fenol, aktivitas antibakteri, pemisahan komponen dengan KLT dan KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat empat isolat jamur endofit daun teratai G1, G2, G3 dan G4. Penentuan kandungan total fenol menggunakan metode Folin-ciocalteau, aktivitas antibakteri dan KLT bioautografi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Plat silika GF₂₅₄ (Merck), autoklaf (kaipu), inkubator (DNP), jangka sorong (Tricle Brand), Laminar Air Flow (Indotech), spektrofotometri uv-vis (Thermoscientific Genesys 150, seri 945Y199022), Asam galat (Sigma aldrich), Nutrient agar (Merck), Sabaraoud Dextrose Agar (Himedia), pelarut n-heksan (Merck), etil asetat (Merck), diklorometana (Merck), metanol (Smart lab), etanol (Smart lab).

Prosedur Penelitian

Isolat jamur endofit (G1-G4) yang telah diremajakan di kultivasi menggunakan medium beras (50 gram dalam air steril 55 mL dalam botol 500 mL yang telah disterilkan) selama 28 hari pada suhu ruang. Medium beras diekstraksi dengan pelarut etil asetat dengan cara maserasi selama 24 jam x 3 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan destilasi vakum dan dipekatkan dengan penangas air pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kjer *et al.*, 2010).

Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, analisis kandungan dan KLT-bioautografi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, serta kandungan total fenolnya.

1. Penentuan kandungan total fenol ekstrak (Kemenkes RI, 2017) .

Kandungan total fenol ekstrak etil asetat isolat jamur endofit dengan kode G₁, G₂, G₃ dan G₄ ditentukan menggunakan reagen Folin-Ciocalteau dengan asam galat sebagai standar. Setiap ekstrak dilarutkan dengan etanol (1000 ppm) diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan 5 mL larutan Folin-Ciocalteau (7,5 % v/v) dikocok dan diamkan selama 8

menit, kemudian tambahkan 4 mL NaOH (1 %b/v) lalu homogenkan. Larutan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 729 nm. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk asam galat sebagai larutan standar untuk kurva kalibrasi, Sebanyak 1 mL larutan asam galat dengan seri konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm (Kemenkes RI, 2017).

Persamaan regresi linear larutan asam galat diperoleh $y = 0,0104x + 0,0146$ dengan nilai $R^2 = 0,9989$.

Hasil dinyatakan dalam satuan mg setara asam galat/gram ekstrak (mg GAE/gram). Dimana nilai total fenol dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalen* (GAE). Perhitungan kandungan total fenolik TPC (*Total Phenolic Content*) menggunakan rumus berikut:

$$TPC = \frac{c \times v \times fp}{g}$$

Keterangan :

c	= Konsentrasi fenolik (nilai x (µg/mL))
v	= Volume ekstrak yang digunakan (mL)
fp	= Faktor Pengenceran
g	= Berat sampel yang digunakan (g)

2. Analisis komponen dengan KLT

Ekstrak etil asetat ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan beberapa variasi fase gerak hingga diperoleh pemisahan komponen yang optimal, KLT yang telah dielusi diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Penampak noda digunakan reagen semprot FeCl_3 1% untuk senyawa fenol dan dragendorf untuk senyawa alkaloid. Selanjutnya diukur jarak tempuh tiap-tiap spot dan dihitung nilai Rf serta diamati warna noda yang dihasilkan. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik selanjutnya digunakan untuk KLT- Bioautografi (Aslah, Lolo and Jayanto, 2019).

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda dari titik awal}}{\text{Jarak yang di tempuh pelarut dari titik awal}}$$

3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan KLT Bioautografi

Suspensi bakteri dengan transmitan 25 % pada panjang gelombang 580 nm di teteskan kedalam medium hingga bakteri uji merata pada seluruh permukaan medium. Kertas cakram yang telah disterilkan ditetesi dengan 10µl ekstrak etil asetat isolat jamur G1-G4 5 % b/v, tetrasiklin 0,5 % b/v (kontrol positif), dan etanol 96 % (kontrol negatif) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Brooks *et al.*, 2013). Adanya zona bening pada tiap cakram diukur diameter dengan jangka sorong (Brooks *et al.*, 2013).

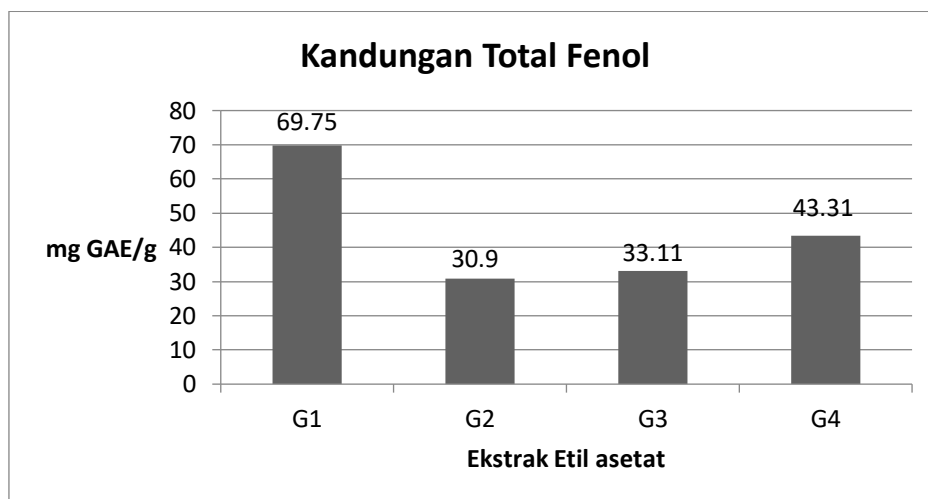
Plat KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium NA (inokulum) yang telah memadat, dan diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Adanya zona bening yang timbul pada lempeng menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada golongan senyawa tersebut (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016)

Analisis Data

Data yang di peroleh yaitu kandungan total fenol, pemisahan komponen dengan KLT, diameter zona hambatan dari metode difusi dan analisis KLT-bioautografi ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan total fenol ekstrak etil asetat dengan metode *Folin ciocalteau* diperoleh pada jamur G1 yaitu 69,75 mg GAE/g, diikuti jamur G4 (43,31 mg GAE/g), jamur G3 (33,11 mg GAE/g) dan jamur G4 (30,8 mg GAE/g) dan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan Total Fenol Ekstrak Etil Asetat Isolat Jamur Endofit Daun Teratai

Kandungan total fenol ekstrak etil asetat jamur endofit dapat dikategorikan menjadi tinggi, sedang dan rendah. Kandungan total fenol ekstrak etil asetat G1 dan G4 termasuk kategori kuat karena kandungan total fenol lebih besar dari 40 mg/g, ekstrak etil asetat jamur G2 dan G3 termasuk kategori sedang karena kandungan total fenol 20 – 40 mg/g (Zohri, Moharram and El-ghani, 2017).

Penentuan kandungan total fenol ekstrak etil asetat dari 21 isolat jamur endofit telah dilakukan pada tanaman *Eugenia jambolana* dengan variasi nilai 4,20 hingga 60,13 mg GAE/g. Konsentrasi paling tinggi kandungan total fenol dari ekstrak jamur *Chaetomium* sp (Yadav, Yadav and Yadav, 2014). Pada tanaman teratai ini, kandungan total fenol ekstrak metanol bunga *N. nouchali* 26,13 mg GAE/g lebih rendah dibandingkan ekstrak etil asetat jamur endofit daun teratai (Nagavani and Rao, 2010).

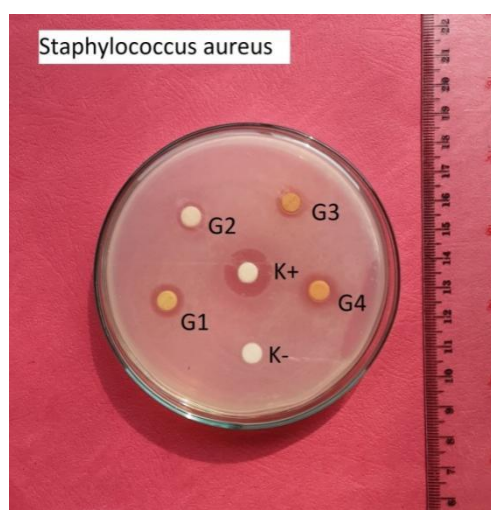
Metode Folin-ciocalteu merupakan metode sederhana dalam pengukuran kandungan fenol, dimana pereaksi merupakan larutan yang stabil jika terlindung dari reduktor dan cahaya dengan mekanisme kerjanya reaksi oksidasi/reduksi dengan gugus fenolik teroksidasi dan ion logam tereduksi (Agbor, Vinson and Donnelly, 2014). Penggunaan asam galat sebagai senyawa standar dikarenakan asam galat merupakan antimikroba ringan. Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksil-benzoat) merupakan senyawa polihidroksifenol yang tersebar luas pada tanaman, aktivitas antimikroba ringan asam galat terhadap bakteri plankton, biofilm dan jamur, aktivitas antimikroba asam galat diperoleh dari kemampuan pro-oksidan karena sifat autooksidasinya dalam kondisi tertentu sehingga menghasilkan *reactive oxidative species* (ROS) seperti radikal hidroksil, hidrogen peroksida, dan anion superoksida yang memberikan aktivitas antimikroba asam galat serta berhubungan dengan kemampuan asam galat dalam menginduksi apoptosis pada lapisan sel bakteri yang berbeda (Wang *et al.*, 2017). Aktivitas asam galat terhadap bakteri *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* dan *Listeria monocytogenes* dengan mekanisme kerja asam galat menyebabkan perubahan ireversibel pada bakteri dengan mengubah permeabilitas membran, hidrofobisitas dan sifat fisikokimia bakteri (Ghamsari, *et al.*, 2023).

Hasil uji aktifitas antibakteri ekstrak etil asetat jamur endofit G1, G2, G3 dan G4 daun teratai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada **Tabel I** dan **Gambar 2**.

Tabel I. Hasil Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Isolat Jamur Endofit Daun Teratai terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ekstrak	Diameter Zona Daya Hambat (mm)
G1	10,67 ± 0,9
G2	9,6 ± 0,35
G3	10,2 ± 0,17
G4	10,03 ± 1,18
Tetrasiklin 0,5 % b/v (+)	14,48 ± 0,39
Etanol 96 % (-)	-

Hasil uji aktifitas antibakteri dari ekstrak etil asetat isolat jamur endofit G1, G2, G3 dan G4 dengan konsentrasi 5 % b/v memberikan diameter zona daya hambat yang berbeda-beda, diameter zona daya hambat ekstrak G1 lebih besar dibandingkan G4, G3 dan G2.



Gambar 2. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Dengan Metode Difusi Agar

Aktifitas antibakteri ekstrak etil asetat diperkuat dengan kandungan total fenol, dimana ekstrak etil asetat G1 memiliki kandungan total fenol lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat G4, G3 dan G2. Mekanisme kerja senyawa golongan fenol terhadap sel bakteri adalah dengan merusak membran bakteri, menghambat faktor virulensi seperti enzim dan toksin, dan menghambat pembentukan biofilm bakteri (Miklasińska-Majdanik *et al.*, 2018).

Penelitian ini juga memberikan hasil yang baik, dimana ekstrak etil asetat jamur endofit daun teratai *N. nouchali* dengan kode RDNM-04, RDNM-18, RDNM-20 dan RDNM-23 memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan diameter zona daya hambat berturut-turut adalah 16,5±1,3 mm, 25,0±0,2 mm, 10,0±0,4 mm dan 9,1±1,0 mm (Dissanayake *et al.*, 2016).

Selanjutnya dilakukan skrining kandungan metabolit sekunder ekstrak etil asetat G1, G2, G3 dan G4 menggunakan plat KLT dan dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Skrining kandungan metabolit sekunder menggunakan plat KLT silika gel 60 F₂₅₄. Plat KLT ditotolkan ekstrak dan dielusi dengan fase gerak yang bervariasi untuk memperoleh hasil pemisahan yang baik. Plat yang telah dielusi dilihat dengan penampak bercak sinar UV 254 dan UV 366, penampak noda yang digunakan larutan dragendorff untuk alkaloid dan FeCl₃ 1 % untuk identifikasi senyawa fenol.

Hasil skrining senyawa ekstrak etil asetat pada plat KLT dengan variasi eluen yang berbeda-beda menunjukkan pemisahan yang dapat dilihat pada Tabel II. Hasil KLT dengan penampak bercak lampu UV 254 dapat dilihat pada Gambar 3, dan Gambar 4 untuk hasil penampak bercak dengan FeCl₃ 1 %.

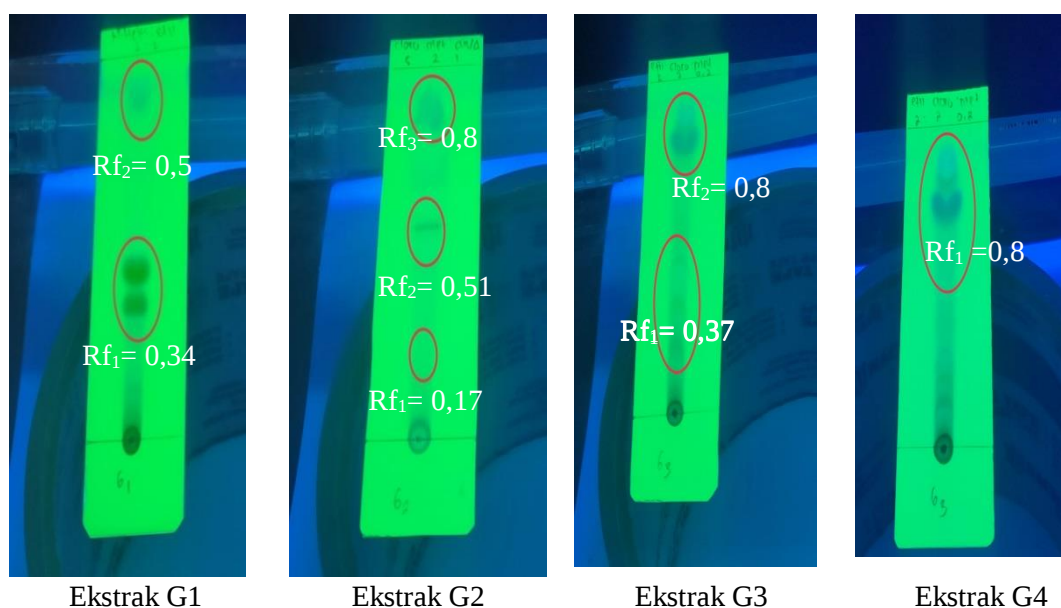
Tabel II. Hasil Skrining Senyawa Ekstrak Etil asetat G1, G2, G3 dan G4 pada plat KLT

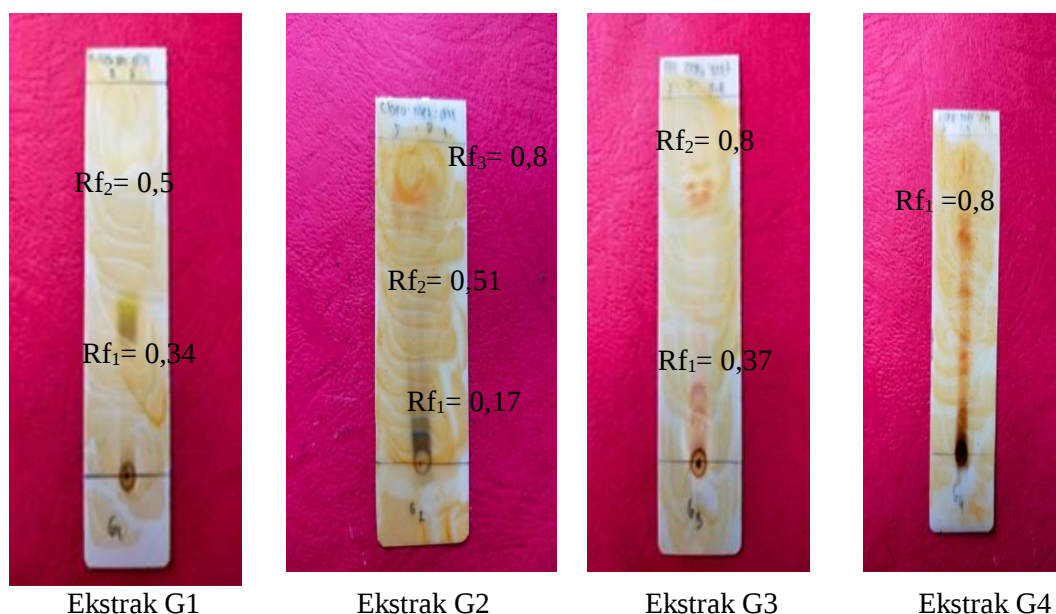
Ekstrak	Eluen	Rf	Penampak Bercak		Senyawa
			UV 254	FeCl ₃ 1 %	
G1	n-heksan: EtOAc (1 : 1)	0,34	Hitam kebiruan	Hitam	Fenol
		0,5	Hitam kebiruan	Kuning	-
G2	Kloroform: metanol:air (5:2:1)	0,17	Hitam kebiruan	Hitam	Fenol
		0,51	Hitam kebiruan	Hitam	Fenol
		0,8	Hitam kebiruan	Coklat	Fenol
G3	Etil asetat : kloroform : metanol (2 : 2 : 0,2)	0,37	Hitam kebiruan	Coklat	Fenol
		0,8	Hitam kebiruan	Coklat	Fenol
G4	Kloroform : metanol : air (6 : 1,5 : 1)	0,8	Hitam kebiruan	Coklat	Fenol

Ekstrak etil asetat jamur isolat G1 memperlihatkan pemisahan dengan eluen n-heksan : etil asetat (1 : 1) dan terdapat tiga bercak berfluoresensi hitam kebiruan pada lampu UV 254. Pada Rf 0,34 memberikan warna hitam oleh penampak bercak FeCl₃ 1 % dan diduga senyawa golongan fenol, sedangkan pada Rf 0,5 tidak memberikan noda bercak berwarna. Ekstrak etil asetat G2 dengan eluen kloroform : metanol : air (5:2:1) memperlihatkan tiga noda bercak berfluoresensi hitam kebiruan dengan lampu UV 254, pada Rf 0,17 dan 0,51 memberikan warna hitam, Rf 0,8 berwarna coklat setelah diberikan FeCl₃ 1 % dan diduga senyawa golongan fenol.

Ekstrak etil asetat G3 dengan fase gerak etil asetat : kloroform : metanol (2:2:0,2) memberikan bercak noda yang berfluoresensi hitam kebiruan dengan lampu UV 254, pada Rf 0,37 dan 0,8 berwarna coklat dengan penampak bercak FeCl₃ 1 % dan diduga senyawa golongan fenol. Ekstrak etil asetat G4 dengan fase gerak kloroform : metanol : air (6:1,5:1) memperlihatkan bercak besar berwarna hitam kebiruan pada Rf 0,8 dan berwarna coklat dengan penampak bercak FeCl₃ 1 % diduga sebagai senyawa golongan fenol.

Hasil penelitian pemisahan komponen senyawa dari ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) memperlihatkan senyawa golongan fenol dengan Rf 0,47 dengan eluen metanol : kloroform (7:3), bercak berwarna coklat dengan FeCl₃ (Nurhasanah and Gultom, 2020)

**Gambar 3.** Hasil KLT Ekstrak Etil Asetat G1,G2, G3 Dan G4 Dengan Penampak Bercak Lampu UV 254



Gambar 4. Hasil KLT ekstrak etil asetat G1, G2, G3 dan G4 dengan penampak bercak FeCl_3 1 %

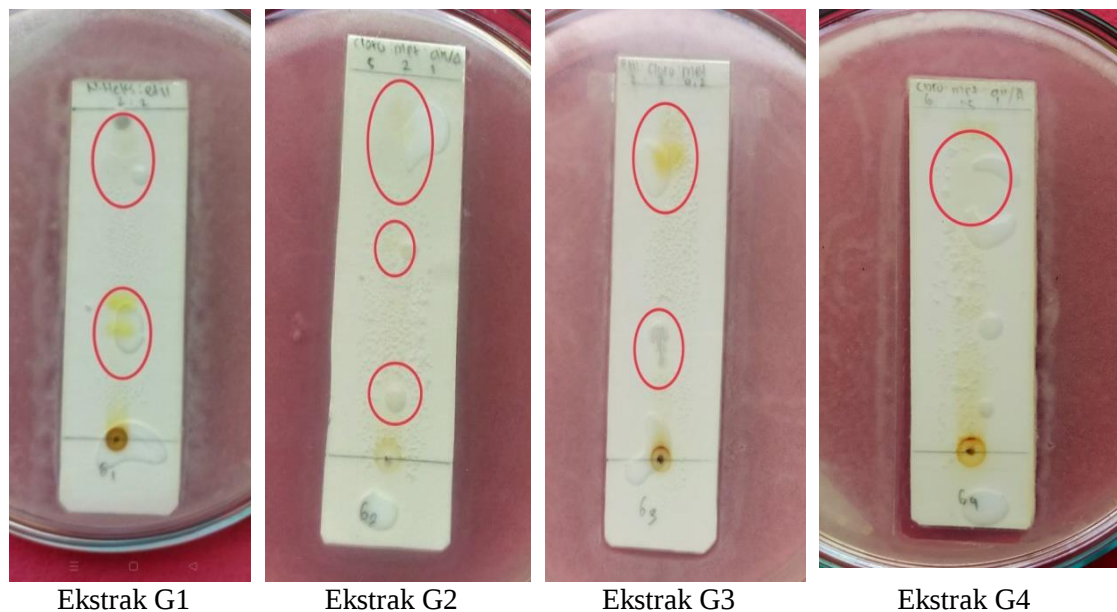
Hasil skrining senyawa menggunakan plat KLT ini kemudian dilanjutkan dengan KLT-Bioautografi. Metode bioautografi dilakukan untuk mengetahui senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, dengan mengamati zona bening yang terbentuk dimedium agar pada plat KLT tersebut (Balouiri, Sadiki and Ibensouda, 2016).

Hasil KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat G1, G2, G3 dan G4 dapat dilihat pada **Tabel III** dan **Gambar 5**.

Tabel III. Hasil Uji Ekstrak Etil asetat G1, G2, G3 dan G4 dengan KLT-Bioautografi

Ekstrak	Eluen	Rf	Warna bercak noda	Diameter zona daya hambat (mm)
G1	n-heksan: EtOAc (1 : 1)	0,34	Kuning	11,6
		0,5	Hitam	13,45
G2	Kloroform: metanol:air (5:2:1)	0,17	Hitam	4
		0,51	-	8,2
G3	Etil asetat : kloroform : metanol (2 : 2 : 0,2)	0,8	Coklat	17,23
		0,37	Hitam	8,12
G4	Kloroform : metanol : air (6 : 1,5 : 1)	0,8	Coklat	10,78
		0,8	-	14,16

Hasil KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat G1, G2, G3 dan G4 memperlihatkan zona daya hambat pada Rf masing-masing komponen yang diduga merupakan golongan fenol. Zona daya hambat yang dihasilkan berbeda-beda untuk tiap Rf, beberapa Rf yang memberikan diameter zona daya hambat yang besar disebabkan oleh beberapa senyawa yang berdekatan Rf nya sehingga komponen senyawa yang terkandung bekerja sinergis untuk menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 5. Hasil KLT Bioautografi ekstrak G1, G2, G3 dan G4

Senyawa fenol merupakan senyawa dengan cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil, didalam tanaman senyawa fenol diklasifikasikan menjadi fenol sederhana dan polifenol berdasarkan jumlah unit fenol didalam molekul, dapat terdiri dari fenol sederhana, kumarin, lignin, lignan, tanin terkondensasi dan terhidrolisis, asam fenolik dan flavonoid (Khoddami, Wilkes and Roberts, 2013). Struktural polifenol yang bervariasi menghasilkan aktivitas antibakteri, dengan mengubah struktur dan morfologi sel atau menyebabkan ketidakseimbangan dalam metabolisme bakteri, hal ini dikarenakan gugus hidroksil senyawa fenolik dapat berinteraksi dengan bagian sel bakteri. Asam fenolik memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, aktivitas asam fenolik lebih lemah dibandingkan senyawa fenolik lainnya dan hal ini tergantung pada spesies, strain, dan struktur kimia senyawa, khususnya jumlah dan posisi substituen dalam cincin benzena dan panjang rantai jenuhnya, salah satu mekanisme kerja asam fenolik adalah penurunan pH ekstraseluler bakteri, sama seperti halnya asam galat dan asam klorogenat (Lobiuc *et al.*, 2023). Asam fenolik mempunyai sifat aktif pada bagian membran bakteri sehingga menyebabkan pecahnya konsituen sel, termasuk asam nukleat, protein dan ion anorganik. Asam fenolik pada bagian membran sel bakteri dengan cara hiperasidifikasi yaitu dengan mengubah potensi sel membran. Disosiasi asam fenolik membuat membran lebih permeabel sehingga mempengaruhi pompa natrium-kalium. Bakteri gram positif lebih rentan terhadap mekanisme ini karena tidak memiliki lapisan membran (Cueva *et al.*, 2010).

Senyawa bioaktif dari jamur endofit sebagai antibakteri dari berbagai jamur Ascomycetes, Basidiomycetes dan Zygomycetes. Senyawa bioaktif antibakteri ini terdiri dari golongan alkaloid, benzopiranon, chinon, sitokalsin, mullein, peptida, fenol, kuinon, flavonoid, steroid, terpenoid, seskuiterpen, xanthone, dan lain-lain (Deshmukh *et al.*, 2022). Komponen senyawa antibakteri Chaetoglobosin A dan Chaetoglobosin C yang merupakan kelompok senyawa sitokalsin yang telah diisolasi dari jamur endofit (RDNM-04) *Chaetomium globosum* yang diperoleh dari bagian daun *N. nouchali*. Kedua Komponen ini mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis*, *MRSA* dan *S. aureus* (Dissanayake *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat isolat jamur endofit daun teratai (*N. nouchali* Burm F) G1, G2, G3 dan G4 memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan kandungan total fenol kategori sedang dan kuat. Analisis KLT-Bioautografi

diperoleh senyawa fenol yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRTPM) atas dana Penelitian Dosen Pemula (PDP) Kemendikbudristek dengan SK No 0267/ES/AK.04/2022 tahun anggaran 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, G. A., Vinson, J. A. and Donnelly, P. E. (2014). Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay, *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3(8), 147–156. doi: 10.19070/2326-3350-1400028.
- Aslah, A., Lolo, W. A. and Jayanto, I. (2019). Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), *Pharmakon*, 8(2), 505-515. doi: 10.35799/pha.8.2019.29320.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79 doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A. (2005), *Mikrobiologi Kedokteran (=Medical Microbiology)*, Penerjemah dan Editor Eddy Mudihardi, Jakarta : Salemba Medika.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M. V., Martin-Alvarez, P. J., Bills, G., Vicente, M. F., Basilio, A., Rivas, C. L., Requena, T., Rodriguez, J. M., and Bartolome, B. (2010). Antimicrobial Activity of Phenolic Acids Against Commensal, Probiotic, and Pathogenic Bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382. doi:10.1016/j.resmic.2010.04.006.
- Dai, J. and Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. doi: 10.3390/molecules15107313.
- Deshmukh, S. K., Dufpsse, L., Chippa, H., Saxena, S., Mahajan, G. B., and Gupta, M.K. (2022). Review-Fungal Endophytes: A Potential Source of Antibacterial Compounds. *Journal of Fungi*, 8(164), 1-94. doi:10.3390/jof8020164.
- Dissanayake, R. K., Ratnaweera, P. B., Williams, D.E., Wijayarathne, D., Wijesundera, R. L. C., Andersen, R. J., and de Silva, E. D. (2016). Antimicrobial activities of endophytic fungi of the Sri Lankan aquatic plant *Nymphaea nouchali* and chaetoglobosin A and C, produced by the endophytic fungus *Chaetomium globosum*. *Mycology*. 7(1), 1–8. doi: 10.1080/21501203.2015.1136708.
- Fathoni, A., Ilyas, M., Praptiwi, Wulansari, D., and Agusta, A. (2022). Antibacterial and Antioxidant Activities of Fungal Endophytes Isolated from Medicinal Plants in Simeulue Island, Aceh. *HAYATI Journal of Biosciences*, 29(6), 720-732. doi: 10.4308/hjb.29.6.720-732.
- Ghamsari, S. K., Rahimi, M., and Khorsandi, K. (2023). Review-An update on The Potential Mechanism of Gallic Acid as an Antibacterial and Anticancer Agent. *Food Science & Nutrition*, 11(10), 5856-5872. doi: 10.1002/fsn3.3615.
- Kemenkes RI (2017) *Farmakope Herbal Indonesia*. II. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A. and Roberts, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. doi: 10.3390/molecules18022328.
- Kjer, J., Debbab, A., Aly, A. H., and Proksch, P. (2010). Methods for Isolation of Marine-Derived Endophytic Fungi and Their Bioactive Secondary Products. *Nature Protocols*, 5(3), 479–490. doi : 10.1038/nprot.2009.233.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction. In K. G. Ramawat, & J.-M. Mérillon (Eds.), *Natural Products (1543-1580)*. Springer. doi: 10.1007/978-3-642-22144-6.
- Liu, J. and Liu, G. (2018). Analysis of Secondary Metabolites from Plant Endophytic Fungi. *Methods in Molecular Biology*, 1848, 25–38. doi: 10.1007/978-1-4939-8724-5-3.

- Lobiuc, A., Paval, N.E., Mangalagiu, I. I., Gheorghita, R., Teliban, G. C., Amariuca-Mantu, D., and Stoleru, V. (2023). Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolic-Review. *molecules*, 28, 1114, 1-17, doi: 10.3390/molecules28031114.
- Marston, A. (2011). Thin-Layer Chromatography with Biological Detection in Phytochemistry. *Journal of Chromatography A*, 1218(19), pp 2676-2683. doi: 10.1016/j.chroma.2010.12.068
- Miklasińska-Majdanik, M. Kepa, M., Wajtycka, R. D., Idzik, D., and Wasik, T. J. (2018). Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), 1–18. doi: 10.3390/ijerph15102321.
- Nagavani, V. and Rao, T. R. (2010). Evaluation of Antioxidant Potential and Qualitative Analysis of Major Polyphenols by RP-HPLC in *Nymphaea nouchali* Brum Flowers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 98–104.
- Nurhasanah, N. and Gultom, E. S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap Bakteri MDR (Multi Drug Resistant) dengan Metode KLT-Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2), 45. doi: 10.24114/jbio.v6i2.16600.
- Parimala, M. and Shoba, F. G. (2014). In Vitro Antimicrobial Activity and HPTLC Analysis of Hydroalcoholic Seed Extract of *Nymphaea nouchali* Burm. F., *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1-9. doi: 10.1186/1472-6882-14-361.
- Selvakumari, E. Shantha, A., Kumar, C. S., and Prabu, T. P. (2016). Phytochemistry and Pharmacology of the Genus *Nymphaea*. *Journal of Academia and Industrial Research*, 5(7), 98–108.
- Supaphon, P., Keawpiboon, C., Preedanon, S., Phongpaichit, S., and Rukachaisirikul, V. (2018). Isolation and Antimicrobial Activities of Fungi Derived from *Nymphaea lotus* and *Nymphaea stellata*. *Mycoscience*. 59(5), 415-423. doi: 10.1016/j.myc.2018.02.012.
- Wang, Q., Oliveira, E.F., Alborzi, S., Bastarrachea, L.J., and Tikekar, R.V. (2017). On Mechanism Behind UV-A Light Enhanced Antibacterial Activity of Gallic Acid and Propyl Gallate against *Escherichia coli* O157:H7. *Scientific Reports*, 7(8325), 1-11. doi: 10.1038/s41598-017-084489-1.
- Yadav, M., Yadav, A. and Yadav, J. P. (2014). In Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Endophytic Fungi Isolated from *Eugenia jambolana* Lam. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), S256–S261. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60242-X.
- Zohri, A. A., Moharram, A. M. and El-ghani, O. A. A. (2017). Antioxidant Potentialities of Some Strains Belonging to Endophytic, Entomopathogenic and Saprophytic Fungi, *European Journal of Biological Research*, 7(1), 76–85.