

## Aktivitas Antimikroba Fraksi N-Heksan dan Fraksi Metanol Jamur Endofit *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, MRSA, dan *Candida albicans* Secara *In Vitro*

Wilda Fhitriany Usman, Rustini, Dian Handayani\*

Laboratorium Biota Sumatera/Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, Indonesia

\*E-mail: [dianhandayani@phar.unand.ac.id](mailto:dianhandayani@phar.unand.ac.id)

### Abstrak

Meningkatnya tingkat resistensi terhadap antibiotik mendorong perlunya pencarian sumber antimikroba baru yang potensial. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari studi sebelumnya yang bertujuan untuk mengeksplorasi aktivitas antimikroba dari fraksi jamur endofit *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub>. Isolat murni *T. harzianum* NT<sub>3</sub> dikultivasi pada media beras padat selama 3–4 minggu pada suhu ruang. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat (EtOAc), kemudian hasil ekstrak diuapkan dengan *Rotary Evaporation*. Fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Uji aktivitas antimikroba dari masing-masing fraksi dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), dan *Candida albicans* menggunakan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan merupakan fraksi paling aktif dibandingkan fraksi methanol, dengan diameter zona hambat sebesar 11,50 mm terhadap *S. aureus*, 12,35 mm terhadap *E. coli*, 11,20 mm terhadap MRSA, dan 13,50 mm terhadap *C. albicans*. Temuan ini menunjukkan potensi fraksi n-heksan dari *T. harzianum* NT<sub>3</sub> sebagai sumber senyawa antimikroba. Namun, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas tersebut.

**Kata kunci:** Jamur endofit; *Trichoderma harzianum*; Aktivitas antimikroba; MRSA; dan *Candida albicans*

### Abstract

The increasing rate of resistance to antibiotics highlights the urgent need for discovering new potential sources of antimicrobial agents. This study is a continuation of previous research to explore the antimicrobial activity of fractions derived from the endophytic fungus *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub>. A pure isolate of *T. harzianum* NT<sub>3</sub> was cultivated on solid rice medium for 3–4 weeks at room temperature. Extraction was performed using ethyl acetate (EtOAc) as the solvent, followed by concentration of the extract using rotary evaporation. Fractionation was then carried out using a liquid–liquid extraction method with methanol and n-hexane as solvents. The antimicrobial activity of each fraction was tested against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), and *Candida albicans* using the agar diffusion method. The results revealed that the n-hexane fraction exhibited the highest antimicrobial activity compared to the methanol fraction, with inhibition zone diameters of 11.50 mm against *S. aureus*, 12.35 mm against *E. coli*, 11.20 mm against MRSA, and 13.50 mm against *C. albicans*. These findings suggest that the n-hexane fraction of *T. harzianum* NT<sub>3</sub> has potential as a source of novel antimicrobial compounds. However, further research is needed to isolate and identify the active compounds responsible for this activity.

**Keywords:** Endophytic fungi; *Trichoderma harzianum*; Antimicrobial activity; MRSA; and *Candida albicans*

## PENDAHULUAN

Peningkatan resistensi antimikroba masih menjadi penyebab utama mortalitas di dunia. Diperkirakan pada tahun 2050 akan terjadi kematian sebanyak 10 juta jiwa setiap tahunnya secara global yang disebabkan oleh meningkatnya penggunaan dan penyalahgunaan antibiotik (Nasution *et al.*,

2023; Salam *et al.*, 2023; Tang *et al.*, 2023). Beberapa bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dilaporkan telah resisten terhadap antibiotik (Handayani *et al.*, 2022). Hal ini mendorong diperlukannya penelitian lebih lanjut untuk menemukan dan mengembangkan antimikroba baru (Khumaidi *et al.*, 2022).

Upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan memanfaatkan jamur endofit yang bersimbiosis dengan biota laut. Jamur endofit diketahui mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas yang sama dengan inangnya. Aktivitas tersebut antara lain seperti antibakteri, antijamur, antivirus, *cytotoxic*, dan *amylases activity* (Ashkan *et al.*, 2023; Gao *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2023). Selain itu, pemanfaatan jamur endofit juga dapat mengurangi dampak lingkungan terhadap eksploitasi bahan baku langsung dari tanaman inangnya (Kuncoro & Sugijanto, 2011).

Ganggang laut adalah salah satu biota laut yang dapat digunakan sebagai sumber isolat jamur endofit. Dari penelitian sebelumnya (Handayani *et al.*, 2019) diperoleh bahwa ekstrak jamur endofit *Trichoderma harzianum* memiliki aktivitas antimikroba yang cukup menjanjikan. Beberapa metabolit sekunder yang telah diketahui dan berhasil diisolasi dari jamur *Trichoderma harzianum* yang berasal dari laut maupun terestrial memiliki aktivitas fungisida, antibakteri, antineoplastik, biokontrol, memproduksi enzim L-methioninase dan pembasmi gulma (Ashkan *et al.*, 2023; Geng *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2022; Xiao *et al.*, 2023).

Hasil skrining antimikroba pada penelitian terdahulu (Handayani *et al.*, 2019), diperoleh bahwa ekstrak etil asetat jamur *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> memiliki bioaktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan jamur *Candida albicans* dengan diameter zona hambat masing-masing yaitu  $20,98 \pm 1,56$  mm,  $17,1 \pm 6,57$  mm, dan  $13,60 \pm 0$  mm pada konsentrasi 5%. Oleh karena itu, dengan adanya bioaktivitas yang potensial ini, maka peneliti ingin meneliti lebih lanjut aktivitas antimikroba dari fraksi jamur endofit *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, bakteri gram negatif *Eschericia coli* dan bakteri

resisten Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans* sebagai upaya dalam penemuan senyawa baru baik di bidang klinis maupun pertanian.

## METODE

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan terdiri dari: cawan Petri., timbangan analitik (Axis<sup>®</sup>), Erlenmeyer 1000 ml (Pyrex<sup>®</sup>), beras, kain kasa, sonikator, *Laminar Air Flow* (Innotech<sup>®</sup>), plat KLT GF<sub>254</sub> (Merck<sup>®</sup>), lampu spiritus, jarum ose, inkubator jamur (Memmert<sup>®</sup>), *hotplate*, *Beaker glass*, gelas ukur 100 ml (Pyrex<sup>®</sup>), tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), vortex (Scilogex<sup>®</sup>), jangka sorong, autoklaf (All american<sup>®</sup>), corong pisah, botol infus, alat destilasi, *Rotary evaporator* (Ika<sup>®</sup> RV8), bejana kromatografi lapis tipis (*chamber*), oven, kolom kromatografi (Pyrex<sup>®</sup>), mikro pipet (Finnapiette<sup>®</sup> F2), kertas cakram steril 6 mm (Advantec<sup>®</sup> Lot:10323691), kamera, lampu UV 254 dan 366 (Camag<sup>®</sup>), *Densitometer Suspension Turbidity Detector* (biosan<sup>®</sup>).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolat jamur *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> yang diperoleh dari koleksi pada penelitian terdahulu (Handayani *et al.*, 2019), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eschericia coli* ATCC 25922, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), jamur *Candida albicans*, *Sabouraud Dextrose Agar* (Merck<sup>®</sup>), *Nutrient Agar* (Merck<sup>®</sup>), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck<sup>®</sup>), cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg/cakram (Oxoid<sup>®</sup>), cakram antijamur Nystatin, alkohol 70%, NaCl fisiologis, aquades, etil asetat, metanol, n-heksan.

### Prosedur Kerja

#### Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofit *T. Harzianum* NT<sub>3</sub>

#### **a. Peremajaan Isolat Jamur *T. harzianum* NT<sub>3</sub>**

Stok kultur murni isolat jamur *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> (di dalam agar miring) diperoleh dari koleksi jamur yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya (Handayani *et al.*, 2019). Isolat jamur diremajakan di dalam cawan Petri menggunakan media agar SDA di bawah LAF, kemudian diinkubasi selama 3 hingga 5 hari pada suhu 25-27°C.

#### **b. Pembuatan Media Kultivasi (Media Beras)**

Proses kultivasi dilakukan menggunakan media beras sebanyak 1000 gr, dengan komposisi 100 gram beras dan 110 ml aquades yang dimasukkan ke dalam masing-masing Erlenmeyer 1000 ml. Bagian mulut Erlenmeyer ditutup dengan kapas yang dibalut dengan kain kas, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. (Kjer *et al.*, 2010).

#### **c. Kultivasi Isolat Jamur *T. harzianum* NT<sub>3</sub>**

Isolat *T. harzianum* NT<sub>3</sub> yang telah diremajakan di cawan Petri dipotong dengan ukuran 1,5 cm × 1,5 cm, lalu dipindahkan ke dalam Erlenmeyer berisi media beras steril (media beras padat) menggunakan spatel yang telah disterilkan. Selanjutnya, Erlenmeyer diinkubasi selama 4 hingga 6 minggu pada suhu 25–27°C dalam kondisi statis dan terlindung dari paparan langsung sinar matahari, hingga jamur tumbuh secara maksimal yang ditandai dengan seluruh permukaan media beras ditumbuhi miselium.

#### **d. Ekstraksi Isolat Jamur *T. harzianum* NT<sub>3</sub>**

Jamur hasil kultivasi di media beras padat yang terdapat di dalam Erlenmeyer, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan penambahan ± 110 mL pelarut etil asetat. Media beras dihancurkan menggunakan spatel, lalu dibiarkan selama 24 jam untuk memperoleh ekstrak etil asetat. Setelah itu, ekstrak dipisahkan dari media

menggunakan kertas saring Whatman. Proses maserasi diulang hingga tiga kali. Apabila setelah tiga kali maserasi warna ekstrak masih pekat, maka maserasi dilanjutkan hingga warna memudar untuk mendapatkan hasil yang optimal. Seluruh ekstrak etil asetat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, lalu ditimbang.

#### **Fraksinasi**

Metode ini digunakan untuk memisahkan senyawa kimia berdasarkan perbedaan kepolarannya. Ekstrak etil asetat dilarutkan dengan 50 ml metanol dan ditambahkan sebanyak 20 ml n-heksan di dalam corong pisah. Kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua fraksi yang tidak saling bercampur di antara dua pelarut. Fraksi n-heksan dipisahkan dan ditampung. Fraksinasi diulangi dengan cara menambahkan n-heksan ke fraksi metanol hingga beberapa kali. Masing-masing fraksi yang diperoleh, yaitu fraksi metanol dan fraksi n-heksan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental fraksi metanol dan fraksi n-heksan. Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama beberapa hari. Kemudian ditimbang berat dari masing-masing fraksi (Fauziah *et al.*, 2022).

#### **Pengujian Aktivitas Antimikroba**

Pengujian aktivitas antimikroba fraksi n-heksan dan metanol dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), jamur *Candida albicans*. Pengujian dilakukan dengan melarutkan fraksi-fraksi tersebut dengan dimetil sulfoksida (DMSO) hingga diperoleh konsentrasi 5%. Masing-masing fraksi n-heksana dan metanol diteteskan pada kertas cakram steril (6 mm). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO, sedangkan kontrol positif untuk bakteri adalah cakram Kloramfenikol (Oxoid®) dengan konsentrasi

30 µg/cakram dan cakram Nystatin (Oxoid®) dengan konsentrasi 100 UI/cakram untuk kontrol antijamur. Daya hambat minimum (mm) diukur menggunakan jangka sorong. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam untuk bakteri dan pada suhu 25°C-27 °C selama 5-7 hari untuk jamur. Setiap perlakuan terdiri dari tiga kali ulangan. (Bauer *et al.*, 1959; Fauziah *et al.*, 2022; Handayani *et al.*, 2019).

### Penentuan Profil KLT Fraksi N-Heksan dan Metanol

Penentuan profil KLT fraksi n-Heksan dan metanol dilakukan dengan cara menotolkan sampel pada plat KLT silika gel GF254 (Merck®), kemudian plat dielusi menggunakan fase gerak etil asetat:metanol dengan perbandingan (4:1). Selanjutnya bercak yang terbentuk diamati pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagian besar wilayah Indonesia adalah perairan. Luas perairan Indonesia adalah 5,8 juta km<sup>2</sup>, yang meliputi 70% dari total luas wilayah Republik Indonesia. Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan garis pantai sepanjang 81.000 km dipenuhi dengan terumbu karang dan biota laut lainnya (Aqilla & Purwaningsi, 2023; Rosari & Yasniwati, 2023). Salah satu biota laut yang memiliki potensi bioaktivitas adalah ganggang laut. Ganggang laut memiliki peran sebagai sumber isolat dari jamur endofit (Handayani *et al.*, 2019). Jamur endofit, yang hidup dalam jaringan tumbuhan, sangat menarik perhatian karena mampu sebagai sumber potensial senyawa bioaktif yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas biologis (I & Ni, 2023).

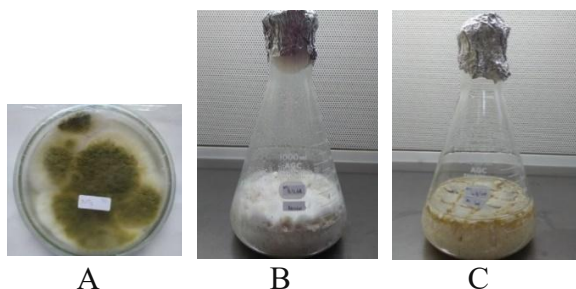
Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa jamur endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang aktif secara farmakologis seperti inangnya. Senyawa bioaktif yang ditemukan pada jamur endofit ini juga telah banyak digunakan sebagai

sumber obat-obatan dan terapi baru (Triastuti, 2020). Beberapa penemuan terkenal dari jamur yaitu penemuan penisilin pada tahun 1928 diisolasi dari jamur *Penicillium notatum* (Lalchhandama, 2020) dan obat antikanker Taxol yang diisolasi dari jamur endofit *Taxus brevifolia* pada tahun 1990-an (Swamy & Vasamsetti, 2021). Temuan ini menunjukkan bahwa jamur endofit dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif untuk menemukan obat baru (Ilmiah *et al.*, 2017).

### Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub>

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya (Handayani *et al.*, 2019) dalam rangka mengetahui dan mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari jamur endofit *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> yang diisolasi dari ganggang laut *Padina* sp. Isolat jamur endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub> dikultivasi pada media beras dan diinkubasi selama 4-6 minggu pada suhu 25-27°C dalam kondisi statik hingga terlihat pertumbuhan jamur maksimal dengan koloni berwarna hijau dan hifa yang membentuk struktur mirip kapas berwarna putih pada seluruh media beras (Kamala *et al.*, 2015; Kjer *et al.*, 2010). Kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etil asetat. Ekstrak kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kasar (23,594 g) lalu dikeringkan. Etil asetat dipilih karena diharapkan dapat menarik semua senyawa metabolit sekunder non polar hingga semipolar (Handayani *et al.*, 2020), seperti pada Gambar 1.





**Gambar 1. A. Isolat jamur *T.harzianum* NT<sub>3</sub> pada media SDA; B. Kultivasi jamur *T. harzianum* NT<sub>3</sub> pada media beras; C. Hasil kultivasi jamur setelah 4-6 minggu dan pertumbuhan jamur maksimal**

### **Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub>**

Metode yang digunakan pada fraksinasi adalah fraksinasi cair-cair. Ekstrak etil asetat jamur endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub> dilarutkan dengan metanol 90 % kemudian difraksinasi dengan n-heksan. Kemudian diperoleh berat fraksi n-heksan (12,376 g) dan berat fraksi metanol (6,548 g) setelah diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

Fraksinasi menggunakan pelarut seperti n-hexan, etil asetat, dan metanol dapat memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Fraksi n-hexan biasanya mengandung senyawa non-polar, etil asetat mengandung senyawa semi polar, dan fraksi metanol mengandung senyawa polar (Noviyanty, 2022).

Hasil fraksinasi pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan berat dari masing-masing fraksi, yaitu fraksi n-heksan lebih banyak dibandingkan dengan fraksi metanol.

### **Aktivitas Antimikroba Jamur Endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub>**

Fraksi metanol dan n-heksan diuji aktivitas antimikrobanya terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Tabel 1), dan jamur *Candida albicans* (Tabel 2). Hasil uji fraksi n-heksan tergolong

kategori kuat (10-20 mm) terhadap 3 bakteri dan 1 jamur yang diujikan karena memiliki nilai MIC > 10 mm (Ernawati & Jannah, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksan mengandung senyawa dengan aktivitas antibakteri dan antijamur yang lebih tinggi dibandingkan senyawa pada fraksi metanol.

Diperkirakan senyawa aktif dalam fraksi n-heksan termasuk golongan senyawa non-polar seperti terpenoid atau steroid, yang umumnya larut dalam pelarut non-polar seperti n-heksan. (Ahmed et al., 2013) Senyawa-senyawa tersebut sering kali mengandung gugus fungsional seperti hidroksil (-OH), karbonil (C=O), atau metil (-CH<sub>3</sub>) yang berperan penting dalam mekanisme antibakteri dan antijamur, misalnya dengan cara mengganggu integritas membran sel mikroorganisme atau menghambat enzim penting dalam metabolisme mereka. (Siddiqui, T., Khan, M.U., Sharma, V. & Gupta, K., 2024; Dembitsky, 2023)

Selain itu, kemungkinan lain adalah senyawa aktif tersebut bersifat semipolar karena fraksi n-heksan ini diperoleh melalui pemisahan (fraksinasi) dari ekstrak etil asetat, yang merupakan pelarut semipolar. Oleh karena itu, fraksi n-heksan mungkin juga mengandung senyawa-senyawa semipolar yang mampu menunjukkan aktivitas biologis signifikan, sehingga aktivitas antibakteri dan antijamur fraksi ini bisa berasal dari kombinasi senyawa non-polar dan semipolar.

Diperkirakan di dalam fraksi n-heksan terdapat senyawa dengan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang berada di fraksi metanol. Sehingga berpotensi untuk diisolasi lebih lanjut. Tidak semua fraksi yang diperoleh harus dilanjutkan untuk purifikasi. Hanya fraksi yang prospektif saja yakni memiliki bobot fraksi kering yang memadai dan memiliki aktifitas farmakologi cukup tinggi saja yang dilanjutkan (Saifudin, 2014).

**Tabel 1. Aktivitas antibakteri fraksi n-heksan**

| Bakteri uji                              | Aktivitas Antibakteri Fraksi (mm) |         |
|------------------------------------------|-----------------------------------|---------|
|                                          | n-heksan                          | metanol |
| <i>S. aureus</i>                         | 11,50                             | 9,25    |
| <i>E. coli</i>                           | 12,35                             | 10,20   |
| MRSA                                     | 11,20                             | 9,50    |
| kontrol (-) DMSO                         | -                                 | -       |
| kontrol (+) chloramphenicol (30 µg/disc) | 29,50                             | 28,50   |

**Tabel 2. Aktivitas antijamur fraksi n-heksan**

| Jamur uji                          | Aktivitas Antijamur Fraksi (mm) |         |
|------------------------------------|---------------------------------|---------|
|                                    | n-heksan                        | metanol |
| <i>Candida albicans</i>            | 13,50                           | 10,50   |
| kontrol (-) DMSO                   | -                               | -       |
| kontrol (+) nystatin (100 UI/disc) | 25,55                           | 26,35   |

Hasil studi literatur senyawa antibakteri dan antijamur yang telah berhasil diisolasi dari jamur endofit *T. harzianum* dapat dilihat pada tabel berikut.

**Tabel 3. Senyawa dengan aktivitas antibakteri dan antijamur yang telah diisolasi dari *T. Harzianum***

| Senyawa                                                   | Aktivitas   | Target Mikroba                                                                              |
|-----------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Harziaderma A, Harzianones G & H (Bao, A., et al, 2024. ) | Antibakteri | <i>Bacillus cereus</i> (patogen pangan)                                                     |
| Trichoharzianol( Jeerapong et al., 2015)                  | Antijamur   | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>                                                       |
| Harzianolide & T39 butenolide (Vinale et al., 2008)       | Antijamur   | <i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Pythium ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>         |
| Harzianic acid (Vinale et al., 2009)                      | Antijamur   | <i>Pythium irregulare</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , and <i>Rhizoctonia solani</i> |

|                                                                                                                                                        |                         |                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Harzianic acid(Guo et al., 2022)                                                                                                                       | Antibakteri             | <i>Pasteurella piscicida</i> sp.                                                   |
| 1,7-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone, 1,5-dihydroxy-3-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone, emodin, and ω-hydroxypachybasin (Guo et al., 2022) | Antijamur               | <i>Botrytis cinerea</i> (Ascomycete) and <i>Rhizoctonia solani</i> (Basidiomycete) |
| Trichodin A, Viridiol, Pyridoxatin                                                                                                                     | Antibakteri & Antijamur | Berbagai patogen tanaman seperti <i>Fusarium</i> spp.                              |
| Trichorzins dan harzianins (Guo et al., 2022)                                                                                                          | Antijamur               | <i>Sclerotium cepivorum</i>                                                        |
| harzianolides K-Q (1–7) (Zhou, C., et al, 2025. )                                                                                                      | Antijamur               | <i>Pestalotiopsis theae</i>                                                        |

Tabel ini menunjukkan bahwa *Trichoderma harzianum* menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan. Aktivitas antimikroba yang tinggi dari senyawa-senyawa ini menunjukkan bahwa *T. harzianum* bukan hanya berperan sebagai agen antagonis dalam lingkungan alamnya, tetapi juga memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai agen biokontrol hayati dalam bidang pertanian, khususnya dalam pengendalian penyakit tanaman yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen.

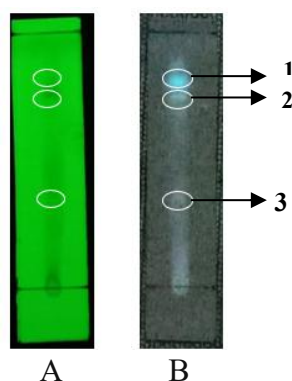
Selain itu, dari perspektif farmasi, keberadaan metabolit bioaktif dari *T. harzianum* membuka peluang eksplorasi lebih lanjut sebagai sumber antibiotik alami. Dalam era meningkatnya resistensi antimikroba, pencarian sumber baru senyawa antimikroba sangat penting. Senyawa yang dihasilkan oleh *T. harzianum* menunjukkan mekanisme kerja yang beragam, mulai dari gangguan pada membran sel patogen hingga penghambatan biosintesis protein, yang menjadikannya

kandidat kuat untuk dikembangkan lebih lanjut melalui studi fitokimia, toksikologi, dan uji klinis.

Dengan demikian, data yang ditampilkan dalam tabel tidak hanya memberikan bukti awal terhadap kemampuan antimikroba dari *T. harzianum*, tetapi juga memperkuat relevansi ilmiah dan praktis dari pemanfaatan endofit ini dalam bidang bioteknologi pertanian dan farmasi. Penelitian lanjutan mengenai isolasi, identifikasi struktur, serta mekanisme aksi dari masing-masing metabolit sangat diperlukan untuk mendukung pengembangan aplikasi terapeutik dan komersial ke depannya.

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi n-Heksan Jamur Endofit *T. harzianum* NT<sub>3</sub>

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mengevaluasi komposisi kimia dari fraksi n-heksan jamur endofit *Trichoderma harzianum*. Fraksi n-heksan diekstraksi menggunakan plat KLT Silika gel GF<sub>254</sub>nm dengan fase gerak etil asetat:metanol (4:1) dan dimonitor di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dari profil KLT terlihat adanya 3 noda dengan nilai Rf masing-masing yaitu: (1) 0,8; (2) 0,725; dan (3) 0,35 terlihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. A. Pola KLT fraksi n-heksan pada lampu UV  $\lambda_{254\text{nm}}$ ; B. Pola KLT fraksi n-heksan pada lampu UV  $\lambda_{365\text{nm}}$**

Pada pola KLT yang terbentuk, dengan menggunakan fase gerak yang cenderung lebih ke semi polar yakni etil asetat:metanol (4:1), diperkirakan Rf (1) merupakan senyawa yang paling semi polar, Rf (2) merupakan senyawa semi polar, dan Rf (3) merupakan senyawa yang lebih polar. Perkiraan ini didasarkan jika terdapat dua senyawa atau lebih dalam suatu sampel (ekstrak atau fraksi) dengan tingkat polaritas yang berbeda, maka senyawa yang sangat polar akan menunjukkan interaksi kuat dengan permukaan silika sehingga nilai Rf nya akan paling kecil. Sebaliknya, senyawa dengan polaritas lebih rendah akan menempati posisi selanjutnya karena memiliki interaksi yang lebih lemah dengan fase diam (silika gel) pada plat KLT. Senyawa yang bersifat non-polar hampir tidak berinteraksi dengan silika, sehingga akan bergerak paling jauh pada pelat kromatografi sehingga nilai Rf nya merupakan yang paling besar (Lade et al., 2014).

Pengamatan pada panjang gelombang UV 254 nm digunakan untuk mendeteksi senyawa yang menyerap sinar UV dan memiliki gugus fungsi seperti ikatan rangkap terkonjugasi dan cincin aromatik karena senyawa ini menyerap energi UV dan menghambat fluoresensi plat, sehingga muncul sebagai bercak gelap yang kontras dengan latar belakang terang. Pada panjang gelombang 254 nm, senyawa yang menyerap sinar UV akan tampak sebagai bercak gelap pada plat KLT. Sedangkan lampu UV panjang gelombang 365 nm, senyawa berfluoresensi akan tampak sebagai bercak terang (umumnya biru atau hijau) di atas latar belakang gelap (Suhendi, 2015).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksan jamur endofit *Trichoderma harzianum* NT<sub>3</sub> memiliki aktivitas antimikroba yang lebih potensial dibandingkan fraksi metanol. Konsentrasi uji fraksi n-heksan dan metanol yang digunakan

adalah 5%. Diameter daya hambat fraksi n-heksan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), dan jamur *Candida albicans*, masing-masing adalah (11,50 mm), (12,35 mm), (11,20 mm) dan (13,50 mm). Sedangkan diameter hambat fraksi metanol terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), dan jamur *Candida albicans*, masing-masing adalah (9,52 mm), (10,20 mm), (9,50 mm) dan (10,50 mm). Fraksi n-heksan yang diperoleh juga lebih banyak dari pada fraksi metanol yaitu 12,376 g sedangkan untuk fraksi methanol 6,548 g. Pada pengujian KLT diperoleh 3 noda dengan nilai R<sub>f</sub> yang berbeda yaitu 0,8; 0,725; dan 0,35 yang mengindikasikan terdapat sejumlah 3 senyawa berbeda yang ada pada fraksi n-heksan yang dapat digunakan untuk *bioassay* lanjutan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada BOPTN Universitas Andalas, Padang, Indonesia atas dukungan pendanaan yang diberikan melalui proyek "Penelitian Dasar Unggulan Klaster Riset-Publikasi Guru Besar Universitas Andalas (PDU-KRP1GB-Unand)," dengan Nomor: T/3/UN.16.17/PT.01.03/KOPDU-KRP1GB/2020. Dukungan tersebut sangat berperan penting dalam keberhasilan penyelesaian penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Ahmed, Y., Rahman, S., Akhtar, P., Islam, F., Rahman, M., & Yaakob, Z. (2013). Isolation of steroids from n-hexane extract of the leaves of *Saurauia roxburghii*. *International Food Research Journal*.
- Aqilla, M. J., & Purwaningsi, E. A. (2023). STRATEGI PENINGKATAN SDM PESISIR DALAM PENGELOLAAN LINGKUNGAN HIDUP DAN SUMBER
- DAYA ALAM. *Riset Sains Dan Teknologi Kelautan*.  
<https://doi.org/10.62012/sensistek.v6i2.31685>
- Ashkan, M. F., Younis, S. A., & Elazab, N. T. (2023). Isolation and characterization of *Trichoderma harzianum* L-methioninase with promising a powerful anticancer. *Saudi Journal of Biological Sciences*.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103870>
- Bao, A., Xia, X., Wang, H., Li, Q., Chen, C., Zhang, Y. & Zhu, H., 2024. Diterpenoids with antibacterial activities from the fungus *Trichoderma harzianum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(27), pp.7010–7017.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c01815>
- Dembitsky, V. M. (2023). Biological Activity and Structural Diversity of Steroids Containing Aromatic Rings, Phosphate Groups, or Halogen Atoms. In *Molecules*.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28145549>
- Ernawati, E., & Jannah, N. (2021). Aktivitas Antimikroba Perasan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*.  
<https://doi.org/10.24853/jkk.17.2.137-144>
- Fauziah, F., Ali, H., Ilmiawati, C., Bakhtra, D., Agustin, Z., & Handayani, D. (2022). Inhibitory Activity of  $\alpha$ -Glucosidase by the Extract and Fraction of Marine Sponge-Derived Fungus *Penicillium citrinum* Xt6. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*.  
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.10167>
- Gao, Y., Wang, J., Meesakul, P., Zhou, J., Liu, J., Liu, S., Wang, C., & Cao, S. (2024). Cytotoxic Compounds from Marine Fungi: Sources, Structures, and Bioactivity. In *Marine Drugs*.  
<https://doi.org/10.3390/md22020070>
- Geng, L., Fu, Y., Peng, X., Yang, Z., Zhang, M., Song, Z., Guo, N., Chen, S., Chen, J., Bai, B., Liu, A., & Ahammed, G. J. (2022). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Biological Control*.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.10>





- 5019
- Guo, R., Li, G., Zhang, Z., & Peng, X. (2022). Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*. In *Marine drugs*. <https://doi.org/10.3390/md20110701>
- Handayani, D., Ananda, N., Artasasta, M. A., Ruslan, R., Fadriyanti, O., & Tallej, T. E. (2019). Antimicrobial activity screening of endophytic fungi extracts isolated from brown algae *Padina* sp. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90302>
- Handayani, D., Dwinatrana, K., & Rustini, R. (2022). ANTIBACTERIAL COMPOUND FROM MARINE SPONGE DERIVED FUNGUS *Aspergillus sydowii* DC08. *Rasayan Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.31788/RJC.2022.1546971>
- Handayani, D., Rendowati, A., Aminah, I., Ariantari, N. P., & Proksch, P. (2020). Bioactive compounds from marine sponge derived fungus *aspergillus unguis* WR8. *Rasayan Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1345781>
- I Gusti Agung Istri Agung Pramiari, & Ni Putu Ariantari. (2023). Review: Potensi Jamur Endofit dari Divisi Alga Hijau (Chlorophyta) sebagai Antibakteri beserta Kandungan Senyawa Bioaktifnya. *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi*. <https://doi.org/10.24843/wsnf.2022.v02.p59>
- Ilmiah, J., Fakultas, M., Pendidikan, I., & Vol, U. (2017). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit pada Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum* L). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*.
- Jeerapong, C., Phupong, W., Bangrak, P., Intana, W., & Tuchinda, P. (2015). Trichoharzianol, a New Antifungal from *Trichoderma harzianum* F031. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01258>
- Kamala, T., Devi, S. I., Sharma, K. C., & Kennedy, K. (2015). Phylogeny and taxonomical investigation of *Trichoderma* spp. from Indian region of Indo-Burma Biodiversity hot spot region with special reference to Manipur. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2015/285261>
- Khumaidi, A., Yustika, Y., & Nugrahani, A. W. (2022). Aktivitas Antibakteri Fraksi Biji (KEBEN) *Barringtonia asiatica* L. Kurz pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.80-87.2022>
- Kjer, J., Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols*. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.233>
- Kuncoro, H., & Sugijanto, N. E. (2011). Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya Sebagai Sumber Bahan Obat Baru. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i3.35>
- Lade, B. D., Patil, A. S., Paikrao, H. M., Kale, A. S., & Hire, K. K. (2014). A comprehensive working, principles and applications of thin layer chromatography. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*.
- Lalchhandama, K. (2020). Reappraising Fleming's snot and mould. *Science Vision*. <https://doi.org/10.33493/scivis.20.01.03>
- Nasution, A. W., Nasution, H. M., Lubis, M. S., & Rahayu, Y. P. (2023). Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana dan etil asetat daun kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i4.228>
- Noviyanty, Y. (2022). FRAKSINASI DAN SKRINING FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) DENGAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*. <https://doi.org/10.52161/jiphar.v9i2.417>
- Rosari, A., & Yasniwati, Y. (2023). PENGATURAN KEGIATAN USAHA PERIKANAN TANGKAP DI LAUT TERRITORIAL DAN ZONA EKONOMI EKLUSIF INDONESIA (ZEEI) DAN KAPAL TANGKAP IKAN NELAYAN DI PROVINSI SUMATERA BARAT. *UNES Law Review*. <https://doi.org/10.31933/unesrev.v5i4.580>

- Saifudin, A. (2014). Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. In *Journal of Natural Medicines*.
- Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. In *Healthcare (Switzerland)*.  
<https://doi.org/10.3390/healthcare11131946>
- Siddiqui, T., Khan, M.U., Sharma, V. & Gupta, K., 2024. Terpenoids in essential oils: Chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine Plus*, 4(2), p.100549.  
<https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100549>
- Suhendi, A. (2015). ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOID DARI DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*.  
<https://doi.org/10.23917/pharmacon.v12i2.36>
- Swamy, M. K., & Vasamsetti, B. M. K. (2021). Taxol: Occurrence, chemistry, and understanding its molecular mechanisms. In *Paclitaxel: Sources, Chemistry, Anticancer Actions, and Current Biotechnology*.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90951-8.00009-6>
- Tang, K. W. K., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2023). Antimicrobial Resistance (AMR). In *British Journal of Biomedical Science*.  
<https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
- Triastuti, A. (2020). Fungal endophytes as the source of medicinal product. *Jurnal Ilmiah Farmasi*.  
<https://doi.org/10.20885/jif.vol16.iss1.art6>
- Vinale, F., Flematti, G., Sivasithamparam, K., Lorito, M., Marra, R., Skelton, B. W., & Ghisalberti, E. L. (2009). Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. In *Journal of Natural Products*.  
<https://doi.org/10.1021/np900548p>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005>
- Wang, J., Peng, Q., Yao, X., Liu, Y., & Zhou, X. (2020). New pestallic acids and diphenylketone derivatives from the marine alga-derived endophytic fungus *Pestalotiopsis neglecta* SCSIO41403. *Journal of Antibiotics*.  
<https://doi.org/10.1038/s41429-020-0308-3>
- Xiao, Z., Zhao, Q., Li, W., Gao, L., & Liu, G. (2023). Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. In *Frontiers in Microbiology*.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146210>
- Yang, S. Q., Li, X. M., Li, X., Chi, L. P., & Wang, B. G. (2018). Two new diketomorpholine derivatives and a new highly conjugated ergostane-type steroid from the marine algal-derived endophytic fungus *aspergillus alabamensis* EN-547. *Marine Drugs*.  
<https://doi.org/10.3390/md16040114>
- Zhang, D., Liu, L., & Chen, B. S. (2023). Marine-Derived Fungi as a Valuable Resource for Amylases Activity Screening. *Journal of Fungi*.  
<https://doi.org/10.3390/jof9070736>
- Zhou, C., Pan, J., Ge, Y., Wu, X. and Wu, B., 2025. New polyketides from *Trichoderma harzianum* and their antifungal activity. *Chemistry & Biodiversity*, [online] Published 6 February. Available at:  
<https://doi.org/10.1002/cbdv.202500140>