

Exploration of Secondary Metabolite from Endophytic Microorganisms in Java Ginseng Root as Antifungals

Erviyana Windiastuti¹, Sri Wahyuni², Visi Tinta Manik^{1*}, Yaya Sunarya², Elya Hartini²

¹Program Studi Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya, Indonesia;

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya, Indonesia;

Article History

Received : February 08th, 2025

Revised : March 15th, 2025

Accepted : April 10th, 2025

*Corresponding Author:

Visi Tinta Manik,

Program Studi Teknologi
Pangan dan Hasil Pertanian,
Fakultas Pertanian, Universitas
Siliwangi, Tasikmalaya,
Indonesia;

Email:

ervianawindiastuti@gmail.com

Abstract: The emergence and spread of pathogens is one of agriculture's problems. *Rhizopus stolonifer* is the pathogen to be on the lookout for because it causes rhizopus loose rot disease. The pathogen must be dealt with immediately because it can result in losses of up to 40%. Integrated plant disease management (IPDM) is the approach being promoted. The application of biological agents or biocontrol is one solution that supports IPDM. The challenge is met by biological agents through the production of secondary metabolites. The endophytic microorganisms found in Java ginseng (*Talinum triangulare*) are one source of secondary metabolites. Thus, the purpose of this study was to investigate whether endophytic microorganisms in Javanese ginseng roots have the ability to combat the pathogen *R. stolonifer*. The experimental method involved analyzing the secondary metabolite from the endophytic microorganism in ginseng in vitro. phytochemical and zone of inhibition were the two types of test that were being performed. The obtained result was a set of extract that contains triterpenoid and alkaloid. In addition, extract B (FN-1) had the strongest inhibition zone against *R. stolonifer*.

Keywords: Biocontrol, endophytic, ginseng, Rhizopus, secondary-metabolites.

Pendahuluan

Perkembangan dunia pertanian kini menghadapi banyak tantangan, salah satu yang menjadi isu global adalah munculnya dan menyebarnya patogen yang menyerang komoditas pertanian. Salah satu penyakit pasca panen yang perlu diwaspadai adalah busuk lunak rhizopus. Penyakit ini disebabkan oleh jamur patogen *Rhizopus stolonifer* yang mampu menyebabkan kerugian hingga 30 – 40% dan dampak ekonomi mencapai \$220 juta (Gulzar *et al.*, 2023). Perlu diingat bahwa patogen ini menyerang berbagai macam komoditas pertanian. Pada tomat, *R. stolonifer* menginfeksi buah yang masih hijau dan bertahan sampai matang. Pada saat itulah, *R. stolonifer* berkembang sangat cepat hingga membuat buah busuk secara total (Tijjani *et al.*, 2020). Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan oleh

Mukhtar *et al.*, (2020), ditemukan bahwa *Rhizopus* spp. berpengaruh paling banyak pada pasca panen jeruk manis.

Dampak yang sangat merugikan tersebut, perlu segera ditanggapi karena mengingat bahwa kebutuhan pangan melalui komoditas pertanian meningkat seiring dengan meningkatnya populasi manusia. Tanggapan yang digalakkan kini dalam menghadapi tantangan tersebut adalah dengan Pengelolaan Penyakit Tanaman Terpadu atau *Integrated Plant Disease Management* (IPDM). IPDM menggunakan pendekatan yang ramah pada lingkungan dalam menghadapi penyakit, yaitu dengan menggunakan agen biologis. Hal ini sejalan dengan yang dilakukan oleh (Shamsullah *et al.* (2024), menguji beberapa minyak atsiri dan ekstrak tanaman untuk menghambat proses pembusukan pada pasca panen oleh *R. stolonifer*. Ditemukan bahwa kayu manis dan cengkeh dengan dosis 2000ppm

mengalami pembusukan sebesar 12,22% dan 6,74%.

Agen biologis atau biokontrol lainnya yang dapat berperan dalam kasus ini adalah mikroorganisme, algae, lichens, dan tanaman, yang mampu memproduksi metabolit sekunder. Sudah banyak penelitian yang mengungkap peran dari metabolit sekunder sebagai antifungal. Metabolit sekunder tersebut terdiri dari kelas steroid, terpenoid, poliketida, alkaloid, dan lainnya). Studi Baazeem *et al.* (2021) melakukan investigasi terkait potensial bioaktivitas dari *Trichoderma hamatum* (strain FB10) yang diisolasi dari akar tumbuhan tomat. Hasilnya adalah mikroorganisme tersebut memiliki potensi antimikrobal dengan kandungan hidrokarbon (heksadesana dan butyrolakton) dan asam lemak (asam butanoat, asam heksadesonoat, dan etanolik).

Potensi lainnya dapat diamati pada ginseng yang sudah dikenal sebagai tanaman obat dengan berbagai macam kandungannya, termasuk metabolit sekunder (salah satunya adalah saponin). Perlu diketahui bahwa beberapa komponen yang dikandung dalam ginseng merupakan hasil transformasi oleh bakteri dan jamur (Ye *et al.*, 2023). Hal tersebut diperkuat oleh hasil pengamatan dari Ali & Rante (2018) bahwa bakteri endofit pada akar ginseng jawa (*Talinum triangulare*) dapat menghambat pertumbuhan fungi. Kemampuan tersebut dibuktikan dengan terdeteksinya gen PKS-1 dan NRPS yang berperan dalam produksi metabolit sekunder, khususnya kelas poliketida.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu banyak investigasi yang dilakukan untuk menunjang pengelolaan penyakit tanaman terpadu. Demi menunjang hal tersebut, ~~artikel~~ penelitian ini bertujuan untuk mengungkap potensi metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit akar ginseng sebagai antifungal *Rhizopus stolonifer*.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Eksplorasi ini dilakukan dari bulan Mei hingga Juli 2024 di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa dari koleksi laboratorium, isolat patogen *R. stolonifer*, Media Potato Dextrose Agar (PDA), media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), media Potato Dextrose Broth (PDB), etil asetat 86%, aquadest, alkohol 96%, dan DMSO 10%. Sedangkan alat-alat yang digunakan antara lain cawan petri, gelas ukur, timbangan analitik, tabung reaksi, jarum ose, pipet, mikropipet, tabung mikropipet, Erlenmeyer, gelas objek, autoklaf, magnetik stirrer, spreader, Laminar Air Flow Cabinet (LAFB), mikroskop, plastik wrap, aluminium foil, kertas stensil, hotplate stirrer, shaker, sentrifus, api bunsen, inkubator, pinset, label, vernier, dan vacuum rotary evaporator.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental melalui uji ekstrak metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng secara in vitro. Mikroorganisme endofit ini didapat dari koleksi yang didapat dari penelitian sebelumnya oleh Visi Tinta Manik *et al.* (2023). Seperti hasil penelitian sebelumnya, pada penelitian ini, ekstrak metabolit sekunder didapat menggunakan 86% pelarut etil asetat. Pada penelitian sebelumnya yang menggunakan beberapa pelarut, hanya pelarut etil asetat yang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan fungi (Ali & Rante, 2018).

Ekstrak metabolit sekunder didapat dari mikroorganisme endofit dengan kode berikut.

- A = Kontrol (tanpa ekstrak)
- B = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit FN-1
- C = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-3
- D = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-9
- E = Dengan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit GJ-12

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder melalui uji kualitatif. Kandungan metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Kemudian uji zona hambat dilakukan

menggunakan metode difusi untuk mengamati kemampuan metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa dalam melawan *R. stolonifer*. Uji ini dilakukan menggunakan petridish dengan media PDA. Pada medium tersebut, diinokulasikan *R. stolonifer*. Kemudian kertas cakram ukuran 6mm yang telah direndam dalam ekstrak metabolit sekunder (A-E) diletakkan di atas petridish dengan *R. stolonifer*. Perlakuan tersebut didiamkan selama 24 jam dan diukur serta diukur zona hambatnya.

Hasil dan Pembahasan

Uji fitokimia

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh ekstrak metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa. Metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid, dan flavonoid. Hasil dan reagen yang digunakan pada uji fitokimia ini terlampir pada **Error! Reference source not found.** Pengujian ini dilakukan dengan mengacu pada metode yang dilakukan dalam penelitian (Mailuhu *et al.*, 2017).

Pengujian alkaloid dilakukan menggunakan reagen dragendroff. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid menunjukkan

endapan kuning sampai merah bata. Seperti yang terlampir pada **Error! Reference source not found.**, keempat ekstrak mengandung alkaloid.

Pengujian steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan reagen asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 . Hasil positif untuk steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru, ungu, atau hijau. Sementara itu, untuk triterpenoid terbentuk warna merah atau cokelat. Pada pengujian ini, pada ekstrak D dan E menunjukkan warna keunguan sementara pada FN-1 dan GJ-3 menunjukkan warna merah kecokelatan.

Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan reagen logam Mg dan HCl untuk memecah struktur flavonoid yang memiliki inti benzopiron, sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Hasil positif tersebut tidak terbentuk pada hasil uji fitokimia dalam penelitian ini (**Error! Reference source not found.**).

Berdasarkan **Error! Reference source not found.** ditunjukkan bahwa ekstrak dari keempat jenis mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa mengandung senyawa alkaloid. Sementara steroid dimiliki oleh ekstrak B (FN-1) dan C (GJ-3), serta triterpenoid dimiliki oleh ekstrak D (GJ-9) dan E (GJ-12). Namun demikian, keempat ekstrak tersebut tidak mengandung senyawa flavonoid.

Tabel 1. Hasil Kandungan Metabolit Sekunder

Pengujian Metabolit Sekunder	Hasil Metabolit Sekunder (Reagen)				
	Alkaloid (Dragendorff)	Tanin (FeCl ₃)	Steroid (Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄)	Triterpenoid (Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄)	Flavonoid (Mg dan HCl)
FN-1	+	-	-	+	-
Gj-3	++	-	-	+	-
Gj-9	+	-	+	-	-
Gj-12	++	-	+	-	-

Keterangan: (+) = Sedikit, (++) = Sedang, (+++) = Banyak

Alkaloid ini berperan sebagai antifungal yang telah diuji dalam penelitian Al-Nafie *et al.* (2024). Dalam penelitiannya, ditemukan bahwa alkaloid yang didapat dari ekstrak *Saussurea costus* mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus* spp. secara signifikan. Flavonoid diketahui mampu menekan pertumbuhan miselium. Namun, pada hasil pengujian dalam penelitian ini, tidak ditemukan senyawa tersebut.

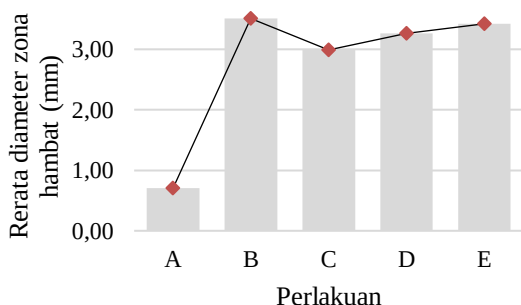
Senyawa lain yang juga ditemukan dalam penelitian ini adalah triterpenoid (terpenoid). Senyawa ini memiliki tingkat menghambat pertumbuhan fungi yang paling rendah dibanding dengan alkaloid dan flavonoid.

Mekanisme alkaloid sebagai antifungal dilakukan secara pleiotropik yang melibatkan sintesis protein dan interkalasi ke dalam DNA jamur. Sementara terpenoid, melakukannya

dengan menurunkan jumlah mitokondria sehingga produksi ATP pada patogen menjadi turun (Al-Nafie *et al.*, 2024). Penelitian lain menunjukkan bahwa perbedaan jenis alkaloid akan menghasilkan perbedaan efek. Begitu pula pada jenis patogen yang dilawannya. Dalam penelitian lainnya, mereka mengujikan ekstrak dari *Picrasma quassioides* kepada 10 jenis patogen. Ditemukan bahwa dalam ekstraknya tersebut mengandung 5 macam senyawa alkaloid yang memiliki kemampuan berbeda-beda sebagai antifungal (Wang *et al.*, 2022).

Zona hambat

Zona hambat dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa terhadap *R. stolonifer*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk pengujian sebanyak 20% dan suspensi *R. stolonifer* yang digunakan sebanyak 10^6 sel. Hasil pengujian menunjukkan bahwa keempat ekstrak, bukan kontrol (A), memiliki potensi sebagai agen biokontrol. Keempat ekstrak tersebut memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *R. stolonifer* yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Dari keempat ekstrak tersebut, yang paling tinggi daya hambat terhadap *R. stolonifer* dimiliki oleh ekstrak FN-1 (B). FN-1 ini merupakan mikroorganisme fungi endofit pada akar ginseng jawa.



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder dari Mikroorganisme Endofit pada Akar Ginseng Jawa

Zona hambat atau yang dikenal dengan Zone of Inhibition (ZOI) merupakan metode lama yang masih dipakai hingga kini. ZOI dilakukan dengan metode uji difusi cakram yang merupakan metode sederhana dan efektif. Diameter dari zona bersih disekitar cakram yang

telah diberi antibiotik ataupun antifungal merupakan potensi daya hambat dari antibiotik tersebut (Barnard, 2019).

Berdasarkan **Error! Reference source not found.** dan **Error! Reference source not found.** memunculkan korelasi antara kemampuan menghambat pertumbuhan *R. stolonifer* yang dimunculkan dalam zona hambat (**Error! Reference source not found.**) dengan kesamaan senyawa metabolit sekunder yang dikandung, yaitu alkaloid dan triterpenoid (**Error! Reference source not found.**). Namun hasil pada **Error! Reference source not found.**, menunjukkan adanya daya hambat paling kuat terhadap *R. stolonifer*, yaitu pada perlakuan B dengan mikroorganisme endofit FN-1. Zona hambat atau zona bening yang terbentuk sebesar 3,51mm. Daya hambat kuat selanjutnya adalah perlakuan E, D, dan C dengan ukuran zona bening sebesar 3,42; 3,26; dan 2,99mm. Sementara kontrol yang tidak diberi ekstrak metabolit sekunder tidak memiliki daya hambat terhadap *R. stolonifer* dengan zona bening yang terbentuk 0,71mm.

Diketahui kingdom dari mikroorganisme endofit tersebut bahwa perlakuan B merupakan fungi sementara perlakuan C, D, dan E merupakan bakteri. Kemampuan daya hambat terhadap *R. stolonifer* dari kedua kingdom tersebut dimungkinkan karena memiliki senyawa metabolit yang sama, yaitu alkaloid. Seperti yang telah diungkap sebelumnya bahwa alkaloid memiliki jenis-jenisnya lagi dalam kandungannya. Hal ini perlu ditelisik lebih lanjut, perlu adanya pengujian senyawa kandungan turunan kelas-kelas tersebut sehingga senyawa yang didapat bisa lebih spesifik. Begitu halnya dengan steroid dan terpenoid pun perlu diketahui senyawa turunannya lagi sehingga dapat diperjelas pengaruhnya terhadap penghambatan pertumbuhan *R. stolonifer*. Penelitian serupa juga dilakukan dengan melihat ZOI dari madu terhadap *R. stolonifer*. Hasilnya adalah semakin kuat konsentrasinya maka ZOI-nya akan semakin tinggi (Johnecheck *et al.*, 2023).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil eksplorasi ekstrak metabolit sekunder dari mikroorganisme endofit pada akar ginseng jawa mendapatkan bahwa

ekstrak ini memiliki potensi sebagai antifungal *Rhizopus stolonifer*. Potensi tersebut didukung dengan kandungan metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid dan triterpenoid. Namun demikian, penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk menguatkan hasil eksplorasi ini.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada semua yang telah memberikan kontribusi penting dalam penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung. Selain itu, ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Universitas Siliwangi yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi

- Ali, A., & Rante, H. (2018). Screening of Endophytic Bacteria Producing Antifungal Isolated From Indonesia Medicinal Plant, Java Ginseng (*Talinum Triangulare*) (Jacq.) Willd. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(6), 152. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2018v10i6.26037>
- Ali, A., & Rante, H. (2018). Screening of Endophytic Bacteria Producing Antifungal Isolated From Indonesia Medicinal Plant, Java Ginseng (*Talinum Triangulare*) (Jacq.) Willd. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(6), 152. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2018v10i6.26037>
- Al-Nafie, F. S., Hussein, H. J., & Al-Rubaye, A. F. (2024). Antifungal Efficacy of the crude Alkaloid, Flavonoid, and Terpenoid of *Saussurea costus* (Falc.) Lipschitz Roots against *Aspergillus* species isolated from Rice Seeds. *Advancements in Life Sciences*, 11(2), 392–397.
- Baazeem, A., Almanea, A., Manikandan, P., Alorabi, M., Vijayaraghavan, P., & Abdel-Hadi, A. (2021). In vitro antibacterial, antifungal, nematocidal and growth promoting activities of *trichoderma hamatum* fb10 and its secondary metabolites. *Journal of Fungi*, 7(5), 1–13. <https://doi.org/10.3390/jof7050331>
- Barnard, R. T. (2019). The zone of inhibition. *Clinical Chemistry*, 65(6), 819. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.299800>
- Gulzar, R. M. A., Javed, I., Abbas, M., Fatima, M., Rehman, T. u, Khan, R. N., Jahangir, M. S., & Nasar, S. (2023). Emerging Trends In Plant Disease Management: A Review Of Sustainable And Innovative Approaches. *Journal of Survey in Fisheries Sciences, February*, 504–509. <https://doi.org/10.53555/sfs.v10i3.1855>
- Johnecheck, C., Petersburg, A., & Rasmus, J. (2023). Analyzing honey's ability to inhibit the growth of *Rhizopus stolonifer*. *Journal of Emerging Investigators*, 2, 2–5. <https://doi.org/10.59720/22-125>
- Mailuhu, M., Runtuwene, M. R. J., & Koleangan, H. S. J. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chem. Prog.*, 10(1), 6. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15614>
- Mukhtar, Y., Muhammad, M. A., Zubairu, S. M., Galalain, A. M., & Ahmad, U. M. (2020). Isolation, identification and pathogenicity of fungal organisms causing postharvest rot of sweet oranges, cucumber and lettuce in Sharada Market, Kano State-Nigeria. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 5(4), 286–291. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v5i4.45266>
- Tijjani, A., Usman, G. U., Gurama, A. U., Babura, S. R., Aliyu, M., & Adamu, A. D. (2020). Fungicidal activity of crude extracts from some indigenous medicinal plants against *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* causing wet rot disease on tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 12(1), 12–18. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v12i1.3>
- Visi Tinta Manik, Nurcahya, I., Suhardjadinata, & Setiaramdani, S. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Endofit Akar Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Yang Diberi Perlakuan Perbedaan Ketersedian Air. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.29080/biotropic.v7i1.16>

- | | |
|--|---|
| <p>94</p> <p>Wang, H., Tian, R., Chen, Y., Li, W., Wei, S., Ji, Z., & Aioub, A. A. A. (2022). In vivo and in vitro antifungal activities of five alkaloid compounds isolated from <i>Picrasma quassioides</i> (D. Don) Benn against plant pathogenic fungi. <i>Pesticide Biochemistry and Physiology</i>, 188(September), 188. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105</p> | <p>246</p> <p>Ye, X. W., Li, C. S., Zhang, H. X., Li, Q., Cheng, S. Q., Wen, J., Wang, X., Ren, H. M., Xia, L. J., Wang, X. X., Xu, X. F., & Li, X. R. (2023). Saponins of ginseng products: a review of their transformation in processing. <i>Frontiers in Pharmacology</i>, 14(April), 1–16. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.11778</p> |
|--|---|