



## PROSIDING

### SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

BIOKIMIA  
(Kode : F-03)

ISBN : 978-979-1533-85-0

## POTENSI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK JAMUR ENDOFITIK YANG HIDUP PADA KULIT AKAR KANDIS GAJAH (*GARCINIA GRIFFITHII* T. ANDERS)

Elfita<sup>1,\*</sup>, Muharni<sup>1</sup>, Munawar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya

\* 08157199923, email: el\_fi\_ta@yahoo.com

### Abstrak

Tumbuhan kandis gajah (*Garcinia griffithii*) telah diketahui mengandung senyawa-senyawa turunan fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan. Banyak penelitian membuktikan bahwa senyawa-senyawa bioaktif tertentu yang dikandung oleh suatu tumbuhan, juga dihasilkan oleh mikroba endofitiknya. Telah diisolasi dua jamur endofitik dari kulit akar tumbuhan kandis gajah yaitu *Chironilia sitophila* dan *Aspergillus fumigatus*. Kedua jamur tersebut dikultur dalam 3L media PDB selama empat minggu dan disaring untuk memisahkan media dengan jamurnya. Media yang sudah mengandung metabolit sekunder dipartisi menggunakan pelarut etil asetat masing-masing sebanyak 3L dengan tiga kali ulangan, yang dilanjutkan dengan evaporasi. Uji aktifitas antioksidan terhadap kedua ekstrak tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Aspergillus fumigatus* menunjukkan aktivitas tertinggi dengan nilai persen inhibisi pada konsentrasi 100 ppm adalah 94 %, yaitu hampir setara dengan aktivitas vitamin C dengan persen inhibisi 97 %, sedangkan ekstrak *Chironilia sitophila* memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah yaitu 89%. Uji fitokimia menunjukkan bahwa kedua ekstrak jamur tersebut mengandung senyawa golongan fenolat.

**Kata Kunci:** jamur endofitik, *Garcinia griffithii*, aktivitas antioksidan

### PENDAHULUAN

Tumbuhan kandis gajah diklasifikasikan ke dalam famili Guttiferae, genus *Garcinia* dan spesies *Garcinia griffithii* T. Anders. Tumbuhan ini merupakan pohon dengan ukuran sedang, tinggi pohon mencapai 23 m, bagian dalam batang mengeluarkan eksudat kuning, tangkai daun kuat dengan panjang 2 cm, bentuk daun oval, ukuran daun (15 x 7) – (28 x 16) cm, bentuk buah seperti apel [1].

Telah diisolasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang kandis gajah yaitu 1,5-dihidroksi-3,6-dime-toksi-2,7-diprenilsan-ton yang merupakan senyawa baru; 1,7-dihidroksisanton; isosan-tosimol;  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glukosida; dan stigmasterol-3-

O- $\beta$ -D-glukosida [2]. Sebelumnya juga telah diisolasi dari kulit batang tumbuhan ini senyawa 1,6-dihidroksi-3-metoksi-4,7-diprenilsanton [3]; 1,6,7-trihidroksisanton [4]; dan gutiferon I [5,6]; dan grifipavisanton [6]. Senyawa isosantosimol; 1,6,7-trihidroksisanton; dan gutiferon I memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan asam askorbat dengan metode uji DPPH.

Mikroba endofitik adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis yang hidup dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan. Dalam hal ini mikroba endofitik mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan

herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen. Selain itu tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya [7].

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa kimia bioaktif yang terkandung dalam sustu tumbuhan, kemungkinan besar difasilitasi oleh senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh satu atau lebih mikroba endofit yang hidup di jaringan tumbuhan, selain dari produk tumbuhan itu sendiri. Alasan mengapa sebagian mikroba endofit menghasilkan beberapa senyawa fitokimia tertentu yang tadinya dihasilkan oleh tumbuhan inangnya mungkin terkait dengan adanya rekombinasi genetik oleh mikroba endofit dengan inangnya sepanjang waktu evolusinya. Konsep tersebut dulu diusulkan sebagai mekanisme untuk menjelaskan mengapa *T. andreanae* dapat menghasilkan taxol [8].

Antioksidan adalah suatu senyawa yang terdapat dalam kadar yang rendah dibandingkan substratnya yang secara signifikan dapat mencegah atau menghambat oksidasi substrat [9]. Definisi ini meliputi berbagai molekul yang bekerja sebagai antioksidan yang bekerja secara enzimatik, kelator, peredam, pemutus rantai dan sitoprotektif [10].

## PROSEDUR PERCOBAAN

### Bahan

Bahan penelitian berupa kulit akar tumbuhan kandis gajah yang diambil dari daerah Sarasah Bonta, Lembah Arau, Sumatra Barat, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB) untuk isolasi jamur endofitik, reagen untuk uji antioksidan terdiri dari: dimetilsulfoksida (DMSO), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol p.a., etil asetat teknis, dan serangkaian media yang umum digunakan untuk uji-uji fisiologis atau enzimasi dalam identifikasi mikroba.

### Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain: *colony counter*, autoklaf, alat inkubator, *water bath*, *shaker incubator*, timbangan analitik, lemari es, mikroskop, hotplat magnetic, foto mikroskop, vakum evaporator, lampu UV, dan alat-alat gelas lainnya yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Mikrobiologi.

### Prosedur kerja

Penelitian ini diawali dengan isolasi jamur dari kulit akar tumbuhan kandis gajah dan seleksi isolat jamur yang menghasilkan metabolit sekunder potensial sebagai antioksidan [11,12]. (Misaghi and Donndelinger, 1990 and Lumyong *et al.*, 2001).

Bagian daun dicuci dengan alkohol 70% dibilas dengan aquades steril, selanjutnya dicuci kembali dengan larutan HgCl<sub>2</sub> 5%, dan dibilas dengan aquades steril. Sampel dihomogenisasi menggunakan waring blender secara aseptik. Selanjutnya diambil 10 gram dan dimasukkan ke dalam medium PCB dan diinkubasi pada shaker dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Selanjutnya, kultur diambil 0,1 ml distreak pada medium PDA lempeng dan ditambahkan antibakteri, diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Setiap koloni yang tumbuh pada PDA dimurnikan dengan menggoreskan menggunakan jarum ose pada medium NB. Masing-masing koloni yang tumbuh terpisah sebagai single colony diinokulasikan pada medium PDA miring untuk jamur, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur stok dan kultur kerja untuk tahapan kerja berikutnya.

Masing-masing isolat jamur yang diambil dari kultur kerja, ditumbuhkan pada medium cair PDB. Kemudian dilanjutkan pada tahap optimasi pertumbuhan setiap isolat mikroba endofitik untuk mendapatkan kultur yang optimal. Isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder, dikultur kembali dalam 3 L medium cair

PDB dan diinkubasi hingga kondisi optimum untuk menghasilkan senyawa bioaktif. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara biomassa dan filtratnya. Filtrat yang mengandung metabolit sekunder dipartisi dengan pelarut etil asetat. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak kental etil asetat. Setiap ekstrak diuji aktifitas antioksidannya dengan metode DPPH [13].

Larutan DPPH 0,05 mM disiapkan dalam metanol. Larutan sampel uji dibuat dengan melarutkan sampel dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi 100 µg/mL. Kepada 0,2 mL larutan sampel ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 0,05 mM. Campuran larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda_{maks}$  517 nm. Untuk kontrol positif digunakan antioksidan standar asam askorbat, dengan perlakuan yang sama seperti sampel. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus sebagai berikut:

$A_k$  = Absorban kontrol  
 $A_s$  = Absorban sampel

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari kulit akar tumbuhan kandis gajah (10 g) telah diisolasi dua jamur yaitu A1 dan A2. Masing-masing isolat jamur yang diperoleh telah dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis sehingga diketahui A1 = jamur hijau tua (*Aspergillus fumigatus*) dan A2 = jamur orange (*Chrysonilia sitophila*). Foto ke dua jamur tertera pada Gambar 1. Hasil dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis tertera pada Tabel 1 dan 2.

Setiap isolat jamur telah dibuat kurva pertumbuhan dengan menumbuhkan jamur pada medium PDB dengan menimbang berat kering miselium pada tahapan hari (Tabel 3). Dari data yang dihasilkan dapat diketahui bahwa waktu yang tepat untuk mengisolasi metabolit sekunder yaitu pada hari ke-27 yang berada diakhir pertumbuhan yang terlihat pada konstannya berat kering miselium pada beberapa tahapan hari. Keadaan ini disebut juga sebagai fase stasioner dimana pada fase tersebut pertumbuhan jamur akan terjadi keseimbangan antara pertumbuhan dan kematian sehingga pada fase tersebut juga akan dihasilkan metabolit sekunder yang maksimal.

Isolat jamur yang diperoleh telah dikultivasi dalam medium cair PDB, masing-masing sebanyak 3 L media selama 27 hari, kemudian di saring. Supernatan dipartisi dengan etilasetat sebanyak tiga kali dan dipisahkan. Selanjutnya ekstrak etilasetat dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental. Foto kultivasi jamur endofitik dari tumbuhan kandis gajah tertera pada Gambar 2.

Masing-masing ekstrak kental etil asetat telah diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH [13]. Penentuan aktivitas peredaman radikal DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi jumlah radikal DPPH sisa dengan alat spektrofotometer UV-vis pada  $\lambda_{maks}$  517 nm. Kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal DPPH pada konsentrasi tertentu, dihitung melalui % inhibisi. Hasilnya (Tabel 4) menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat isolat jamur HT menunjukkan aktivitas yang tinggi setara dengan standar antioksidan vitamin C, sedangkan ekstrak etil asetat jamur OR menunjukkan aktif antioksidan berada dibawah aktivitas vitamin C. Uji fitokimia menunjukkan bahwa kedua ekstrak jamur tersebut mengandung senyawa golongan fenolat.

## KESIMPULAN

Tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder bioaktif seperti antioksidan, maka mikroba endofitiknya juga menghasilkan senyawa antioksidan yang berpotensi untuk menyembuhkan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Dari hasil uji fitokimia, ekstrak jamur endofitik dari kulit akar tumbuhan kandis gajah ini juga menghasilkan senyawa turunan fenolat seperti yang dikandung oleh tumbuhan inangnya. Senyawa tersebut dapat diperbanyak sesuai kebutuhan dalam waktu yang relatif singkat jika dibandingkan dengan mengisolasi dari tumbuhan inangnya. Hal ini merupakan pencerahan dalam mewujudkan harapan untuk menempatkan obat dari bahan alam menjadi bagian integral pelayanan kesehatan formal

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana melalui Hibah Strategis Nasional Tahun 2010, dengan judul: "Produksi Sediaan Obat Tradisional Terstandar untuk Asam Urat dari Mikroba Endofitik Tumbuhan Kandis Gajah (*Garcinia griffithii* T. Anders)"

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Whitmore, M. A. 1973. Tree Flora of Malaya. Forest Department, Ministry of Primary Industries, Malaysia. Longman.
- [2] Elfita E., Muharni M., Madyawati L., Darwati D., Ari W., Supriyatna, S., Bahti, H. H., Dachriyanus D., Cos P., Maes L., Foubert K., Apers S., and Pieters L. 2009. Antiplasmodial and Other Constituents from Four Indonesian *Garcinia* spp. *Phytochemistry* 70: 907-912
- [3] Elfita, Soetardjo, S., Bahti, H.H., dan Dachriyanus. 2008. Diprenylated Xanthone from the Stem Bark of *Garcinia griffithii*. *Indonesian Journal of Chemistry*, 8 (1): 97-100.
- [4] Elfita, Soetardjo, S., Bahti, H.H., dan Dachriyanus. Antioxidative Agent from the Stem Bark of Kandis Gajah (*Garcinia griffithii* T. Anders). International Seminar on Pharmaceutics School of Pharmacy, Institut Teknologi Bandung, October 31, 2007-a.
- [5] Elfita, Soetardjo, S., Bahti, H.H., dan Dachriyanus. Benzofenon Terpenilasi dari Kulit Batang Kandis Gajah (*Garcinia griffithii* T. Anders). Seminar Nasional Kimia – 2007, Universitas Indonesia, Jakarta, 7-8 Agustus 2007-b.
- [6] Nilar., Nguyen, L. H. D., Venkatraman, G., Simyeo, K., and Harrison, L. J. 2005. Xanthones and Benzophenones from *Garcinia griffithii* and *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry* 66: 1718-1723.
- [7] Hung, P.Q. and Annapurna, K. 2004. Isolation and Characterization of Endophytic Bacterial in Soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice*, 12: 92-101.
- [8] Gunatilaka A.A.L. 2006. Natural Products from Plant-Associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence. *J. Nat. Prod*, 69, 509-526.
- [9] Aruona, O. I. 1996. Assesment of potential prooxidant and antioxidant actions. *J. Am. Oil Chem. Soc* 73 (12): 1617-1625.
- [10] Gutteridge, J. M. C. 1995. Lipid teroxidation and antioxidative as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 41, (12) 1819-1822.
- [11] Misaghi, I.J. and Donndelinger, C.R. 1990. Endophytic Bacteria in Symptom-Free Cotton Plants. *The American Phytopathological Society*, 80 (9): 808-811.
- [12] Lumyong, S., Norkaew, N., Ponput-hachart, D., Lumyong, P., and Tomita, F. 2001. Isolation, Optimitation, and Characterization of Xylanase from Endophytic Fungi. *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources. The Tropic*, 15.
- [13] Selvi, A.T, Joseph, G. S., and Jayaprakasha, G. K. 2003. Inhibition of Growth and

Aflatoxin Production in *Aspergillus flavus* by *Garcinia indica* Extract and Its Antioxidant Activity. *Food Microbiology* 20: 455-460.

## LAMPIRAN

Tabel 1. Morfologi koloni isolat jamur pada medium CDA, MEA, dan PDA, inkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu 37°C.

Medium	Karakter	Isolat jamur	
		HT	OR
PDA	Pertumbuhan Diameter Warna koloni Warna Sebalik	++ 3,5 cm Hijau tua Putih	+++ 9 cm Orange Orange
MEA	Pertumbuhan Diameter Warna koloni Warna Sebalik	++ 3,2 cm Hijau muda Putih	+++ 8,5 cm Orange Orange
CDA	Pertumbuhan Diameter Warna koloni Warna Sebalik	+ 2,6cm Putih Putih	++ 5,5 cm Putih putih

Keterangan:

+ = Pertumbuhan Lambat (Diameter < 3 cm)

++ = Pertumbuhan Sedang (Diameter 3-6 cm)

+++ = Pertumbuhan Cepat (Diameter > 6 cm)

HT = hijau tua OR = orange

Tabel 2. Karakteristik morfologi sel

Karakter	Isolat jamur	
	HT	OR
Struktur non reproduktif		
Hifa		
• Septat/aseptat	Septat	Septat
• Warna	Hialin	Hialin
Struktur Reproduksi		
Spora	-	-
• Bentuk		
• Ukuran		
• Permukaan		
• Warna		
Kolumela	-	-
Sporangiofor	-	-
Konidia	+	+
• Bentuk	Bulat	Elips semibulat
• Ukuran	2,5 µm	10x7µm
• Permukaan	Kasar Berduri	Halus
• Warna	Hijau	Hialin
Konidiofor	+	+
• Fialid	+	-
• Metula	-	-
• Vesikel	+	-
• Stipe	+	-
Hasil Identifikasi	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Chrisonilia sitophila</i>

Keterangan:

+ = ada

- = tidak ada

HT = hijau tua OR = orange



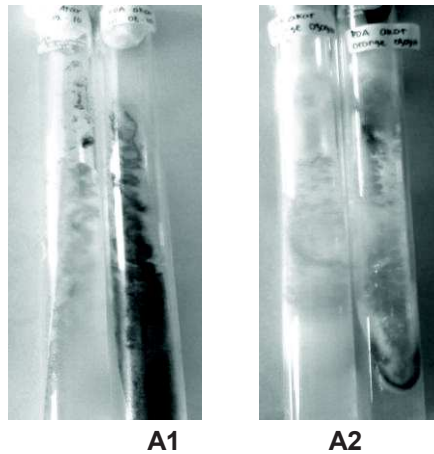
Tabel 3. Berat kering miselium per satuan waktu

Isolat	Berat Kering Miselium (gr/50 ml) Pada Hari ke-									
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
HT	0,08	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,15	0,13
OR	0,10	0,13	0,16	0,18	0,20	0,22	0,22	0,20	0,19	0,18

Keterangan : HT = hijau tua OR = orange

Tabel 4. Persen inhibisi isolat jamur pada konsentrasi 100 ppm dengan metode DPPH

Sampel	Absorbansi	Rata-rata	% inhibisi
Kontrol (DPPH)	0,912 0,911 0,913	0,912	0
HT	0,062 0,054 0,055	0,057	94
OR	0,092 0,111 0,098	0,100	89
Vitamin C	0,032 0,017 0,029	0,026	97,1



Gambar 1. Foto jamur endofitik yang diisolasi dari kulit akar kandis gajah (*Garcinia griffithii*)



Gambar 2. Foto kultivasi jamur endofitik dari kulit akar tumbuhan kandis gajah (*Garcinia griffithii*)