



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KAPANG ENDOFIT Cb.Gm.B3 ASAL RANTING KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanni*)

Antioxidant Activity of Endophytic Fungi Cb.Gm.B3 Extract from Cinnamon (*Cinnamomum burmanni*) Twigs

Fauzy Rachman^{1,3}, Nisa Rachmania Mubarik², Partomuan Simanjuntak^{3,*}

¹Departemen Bioteknologi, Gd. PAU, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper, Bogor, 16680, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 16680, Indonesia

³Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor, 16911, Indonesia

*Email: partomsimanjuntak@gmail.com

ABSTRACT

*There are many degenerative diseases that are caused by a free radical effect. Cinnamon (*Cinnamomum burmanni*) contains cinnamaldehyde compounds that have activity as a powerful antioxidant and fight free radicals. Endophytic fungi can be found in cinnamon plants living symbiotically. Endophytic fungi produce a variety of bioactive metabolites including antioxidants. This research was conducted to isolate endophytic fungi from *C. burmanni* plant which is active as antioxidant. Endophytic fungi isolation was carried out using surface sterilization method and cultivated in PDA media. Antioxidant activity test was performed using free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Selected isolates were then identified molecularly to determine their species. A total of nine fungi were isolated from cinnamon twigs. The result showed that the highest antioxidant activity was obtained from Cb.Gm.B3 with IC₅₀ of 13.219 ± 0.755 µg/mL. The selected isolate Cb.Gm.B3 taxonomically has a high similarity with *Neofusicoccum parvum* isolate PEL23 (Accession no: KY053054.1).*

Keywords: *antioxidant, Cinnamomum burmanni, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, endophytic fungi, Neofusicoccum parvum*

ABSTRAK

Kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) mengandung senyawa sinamaldehyd yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat dan dapat menangkal radikal bebas. Dalam tanaman kayu manis terdapat kapang endofit yang hidup bersimbiosis. Kapang endofit dapat menghasilkan berbagai senyawa metabolit bioaktif termasuk antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi kapang endofit dari tanaman *C. burmanni* yang aktif sebagai antioksidan. Isolasi kapang endofit dilakukan menggunakan metode sterilisasi permukaan dan ditanam pada media PDA. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan reagen 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Isolat terpilih diidentifikasi secara molekuler untuk menentukan spesiesnya. Sebanyak 9 isolat kapang berhasil diisolasi dari jaringan ranting tanaman kayu manis. Aktivitas antioksidan tertinggi (IC₅₀) didapatkan dari isolat Cb.Gm.B3 sebesar 13,219 ± 0,755 µg/mL. Isolat terpilih Cb.Gm.B3 secara taksonomi memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan *Neofusicoccum parvum* isolat PEL23 (No. akses: KY053054.1).

Kata Kunci: *antioksidan, Cinnamomum burmanni, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, kapang endofit, Neofusicoccum parvum*

PENDAHULUAN

Tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) merupakan penghasil kulit kayu untuk bahan baku rempah. Hasil sampingan pada saat panen berupa batang, daun dan ranting juga dapat dimanfaatkan menjadi beragam produk bernilai ekonomis. Prospek tanaman kayu manis di masa depan akan semakin baik sejalan dengan makin bertambahnya penduduk, diketahuinya kandungan kimia pada kayu manis dan manfaatnya untuk industri farmasi, kosmetika, makanan dan minuman (Ferry 2013).

Banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman memiliki efek sebagai obat suatu penyakit. Kayu manis (*C. burmanni*) dipercaya merupakan salah satu sumber antioksidan yang dapat melawan radikal bebas dalam tubuh. Menurut Priani et al. (2014), salah satu tumbuhan yang diketahui mengandung senyawa dengan aktivitas antioksidan yang sangat kuat adalah kayu manis. Kulit batang kayu manis mengandung senyawa sinamaldehyd yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat yang secara efektif dapat melawan radikal bebas termasuk anion superoksida dan hidroksi-radikal, demikian pula radikal bebas yang lainnya dalam pengujian *in vitro* (Jakhetia et al. 2010).

Tanaman juga memiliki kapang yang bersimbiosis di dalam organ tanaman yang disebut sebagai kapang endofit. Kapang endofit merupakan kapang yang hidup di dalam jaringan tanaman yang mempunyai peranan menguntungkan kepada inangnya dengan cara menghasilkan senyawa bioaktif untuk perlindungan terhadap cekaman biotik dan abiotik (Dai et al. 2008). Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung lebih dari satu mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi (Dudeja et al. 2012) ataupun metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik dari tumbuhan inang ke dalam mikroba endofit (Kusari et al. 2012). Tanaman obat telah diketahui merupakan sumber potensial kapang endofit yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa kimia bioaktif (Ginting et al. 2013). Mikroba endofit seringkali menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan oleh inangnya. Sebagai contoh,

tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) diketahui mempunyai senyawa aktif yaitu kurkumin yang berpotensi sebagai antioksidan (Maehara et al. 2011) dan dilaporkan bahwa kapang endofit dari batang tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) juga memproduksi senyawa bioaktif yang juga memiliki aktivitas antioksidan (Widowati et al. 2016). Oleh karena itu kapang endofit yang ada di dalam tanaman kayu manis dimungkinkan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang juga memiliki aktivitas antioksidan.

Penelitian mengenai keragaman kapang endofit dan senyawa kimia bioaktif yang dihasilkan kapang endofit dari batang kayu manis (*C. burmanni* (Nees & T. Nees) Blume) belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit dari batang kayu manis dan mengidentifikasi jenis kapang yang memiliki aktivitas antioksidan dari kapang endofit asal kayu manis.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sampel ranting batang kayu manis (*C. burmanni* (Nees & T. Nees) Blume) dari perkebunan teh Gunung Mas, Puncak, Bogor, kapang endofit, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), kertas saring, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), alkohol 70%, NaOCl, metanol p.a, etil asetat, dan bahan kimia lain.

Isolasi kapang endofit

Sampel ranting tanaman dicuci dengan air mengalir selama 5 menit, kemudian dipotong menjadi beberapa bagian dengan panjang 2-3 cm. Potongan batang disterilisasi permukaan dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,3% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 30 detik. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 detik dengan tiga kali ulangan dan dikeringkan dengan tisu steril ± 1 menit di dalam laminar. Potongan sampel kemudian dibelah dengan pisau steril dan diletakkan pada cawan petri yang berisi media PDA yang mengandung kloramfenikol (250 mg/L) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Sebagai



Gambar 1. A). Tanaman kayu manis; B). Ranting kayu manis sumber isolat kapang endofit

kontrol negatif sebanyak 0,5 mL air steril dari bilasan terakhir disebar pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang. Kapang yang muncul dipindahkan ke media PDA baru tanpa kloramfenikol dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Akmalasari et al. 2013).

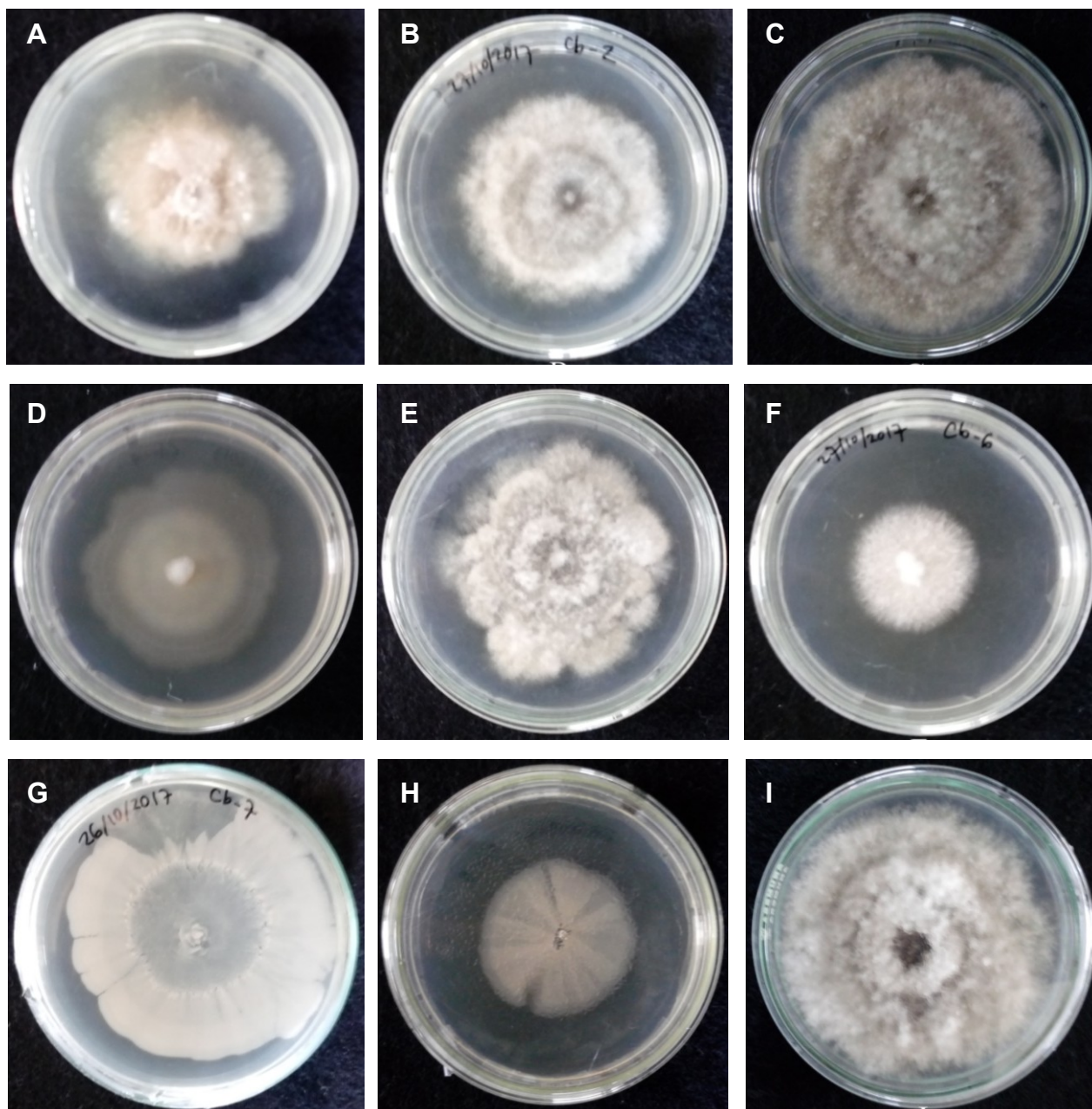
Fermentasi dan ekstraksi

Isolat kapang berpotensi antioksidan yang telah diperoleh difermentasi pada media PDB dan diinkubasi goyang dengan *shaker* pada kecepatan 120 rpm selama 14 hari. Kultur cair disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan biomassa. Filtrat diekstraksi dengan etil asetat sedangkan biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Biomassa kering kemudian diekstrak dengan etil asetat sampai semua biomassa terendam oleh pelarut dengan rasio 1:2. Masing-masing ekstrak dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* (Widowati et al. 2016). Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antioksidannya. Seleksi dilakukan untuk mengetahui aktivitas

antioksidan dari seluruh isolat kapang endofit.

Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan reagen DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) karena paling praktis dan mudah dilakukan dengan keakuratan data yang baik (Molyneux 2004). Seleksi aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dilakukan pada konsentrasi 100 µg/mL untuk masing-masing ekstrak biomassa dan filtrat. Ekstrak dengan konsentrasi 500 µg/mL dipipet 600 µL dan direaksikan dengan 0,6 mL DPPH 0,4 mM kemudian ditambahkan metanol pro analisis sampai total campuran menjadi 3 mL. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Widowati et al. 2016). Dari hasil absorbansi yang didapat kemudian dihitung daya hambatnya dengan persamaan:



Gambar 2. Isolat kapang endofit dari ranting kayu manis yang tumbuh pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA): A). Cb.Gm.B1; B). Cb.Gm.B2; C). Cb.Gm.B3; D). Cb.Gm.B4; E). Cb.Gm.B5; F). Cb.Gm.B6; G). Cb.Gm.B7; H). Cb.Gm.B8; I). Cb.Gm.B9. Keterangan: Cb = *Cinnamomum burmanni*, Gm = Gunung Mas, B = Ranting batang

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan: A: serapan blanko, B: serapan sampel

Ekstrak dengan persentase hambatan tertinggi kemudian diuji lanjut dengan 4 tingkat konsentrasi yaitu 5, 10, 25 dan 50 µg/mL untuk mendapatkan nilai IC₅₀. Untuk kontrol positif digunakan vitamin C (asam askorbat) dengan konsentrasi 3, 6, 9 dan 12 µg/mL. IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50) dihitung dari perpotongan garis antara 50% daya hambatan

dengan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan $y=a+bx$ di mana nilai $y=50$ dan nilai x menunjukkan nilai IC₅₀. Pengelompokan aktivitas antioksidan suatu ekstrak berdasarkan pada nilai IC₅₀. Ekstrak dinyatakan sangat aktif jika nilai IC₅₀<10 µg/mL, aktif jika nilai IC₅₀<100 µg/mL, dan tidak aktif jika nilai IC₅₀>100 µg/mL (Putri et al. 2013).

Penapisan fitokimia

Uji penapisan fitokimia meliputi uji

flavonoid, tannin (Fransworth 1966), dan fenolik (Harborne 1987). Pengujian flavonoid dan tannin, sampel dididihkan dalam air panas selama 5 menit, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan serbuk magnesium, HCl pekat dan amil alkohol. Kocok dengan kuat dan biarkan memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan alkohol menunjukkan adanya flavonoid. Tabung kedua ditambahkan larutan FeCl₃ 1% dan timbulnya warna hijau, biru menunjukkan adanya kandungan tannin. Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan sampel dengan beberapa tetes FeCl₃ 1% dalam etanol. Terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat menunjukkan adanya fenolik.

Identifikasi kapang endofit

Identifikasi molekuler terhadap kapang Cb.Gm.B3 diawali dengan mengeskraksi DNA menggunakan ZR Fungal Bacteria DNA Kit (Zymo Research). DNA genom yang didapat diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer ITS 1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai primer *forward* dan ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai primer *reverse* (White et al. 1990). Amplifikasi DNA dilakukan dengan membuat PCR master mix volume 25 µL yang mengandung 9,5 µL air bebas basa, 12,5 µL 2x My Taq HS Red Mix (Bioline), 1 µL 20 µmol/µL masing-masing primer ITS 1 dan ITS 4 serta 1 µL templat DNA. Reaksi amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus yang terdiri dari 4 tahapan, yaitu pra-denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 15 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 45 detik. Urutan produk PCR dimurnikan dengan menggunakan Zymoclean™ DNA Recovery Kit (Zymo Research). DNA yang dihasilkan dilakukan pembacaan oleh First Base Laboratories, Malaysia. Hasil sekuensing dianalisis dan dicocokkan dengan sekuens DNA kapang yang tersedia di MycoBank (<http://www.mycobank.org>) dan BLAST (<http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Analisis filogeni dilakukan dengan metode *Neighbor Joining* (NJ) dengan program MEGA5 (Tamura et al. 2011), dan

pohon filogenetik dibuat menggunakan model Kimura 2-parameter dengan menggunakan replikasi bootstrap 1000.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi kapang endofit

Sampel tanaman kayu manis (Gambar 1) sebelumnya diidentifikasi terlebih dahulu di Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong, dan hasil determinasi tumbuhan menyatakan bahwa sampel tersebut adalah *C. burmanni* (Nees & T. Nees) Blume.

Kemudian dilakukan isolasi kapang endofit dari ranting kayu manis menggunakan media PDA dan didapatkan 9 isolat kapang endofit (Gambar 2). Kapang endofit yang berhasil diisolasi memiliki deskripsi ciri-ciri dan karakter makroskopis yang bervariasi. Praptiwi et al. (2015) melaporkan bahwa sebanyak 26 kapang endofit berhasil diisolasi dari beberapa bagian tanaman kayu manis, 12 isolat kapang berhasil diisolasi dari batang kayu manis, dan 14 isolat diisolasi dari bagian daun kayu manis. Kapang tersebut 8 isolat diklasifikasikan ke dalam genus *Pestalotiopsis*, 3 isolat genus *Xylaria*, 2 isolat genus *Colletotrichum*, dan 1 isolat genus *Fusarium*. Dua isolat hanya dapat diidentifikasi sampai tingkat famili, yaitu Dematiaceae, dan 10 isolat hanya dapat diidentifikasi sampai tingkat kelas yaitu Coelomycetes. Akan tetapi tidak ditemukan isolat Ascomycota seperti yang berhasil diisolasi pada penelitian ini. Perbedaan variasi kapang endofit yang diisolasi dari suatu tanaman sangat ditentukan oleh banyak faktor terutama faktor lingkungan. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba endofit pada tanaman bervariasi tergantung pada interaksi dengan endofit atau patogen lainnya (Widowati et al. 2016). Kapang endofit yang telah berhasil diisolasi kemudian difermentasi pada media PDB, ekstrak filtrat dan biomassa yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antioksidannya untuk mengetahui kapang endofit yang paling berpotensi.

Rendemen ekstrak biomassa secara keseluruhan lebih besar dari rendemen ekstrak filtrat. Kapang isolat Cb.Gm.B7 memiliki rendemen biomassa yang lebih tinggi dari kapang lainnya sedangkan rendemen ekstrak filtrat yang paling tinggi

Tabel 1. Rendemen ekstrak etil asetat biomassa dan filtrat

No.	Kode isolat	Rendemen b/b ekstrak biomassa (%)	Rendemen b/v ekstrak filtrat (%)
1	Cb.Gm.B1	1,656	0,043
2	Cb.Gm.B2	6,301	0,012
3	Cb.Gm.B3	5,714	0,028
4	Cb.Gm.B4	19,841	0,039
5	Cb.Gm.B5	4,465	0,027
6	Cb.Gm.B6	26,702	0,012
7	Cb.Gm.B7	38,043	0,034
8	Cb.Gm.B8	24,138	0,037
9	Cb.Gm.B9	3,921	0,045

Tabel 2. Aktivitas hambatan peredaman radikal DPPH dari ekstrak etil asetat filtrat dan biomassa

No.	Kode Isolat	Aktivitas hambatan \pm SD ekstrak filtrat (%)	Aktivitas hambatan \pm SD ekstrak biomassa (%)
1	Cb.Gm.B1	0,196 \pm 0,136	11,488 \pm 0,065
2	Cb.Gm.B2	52,157 \pm 6,412	4,520 \pm 0,791
3	Cb.Gm.B3	90,549 \pm 0,580	5,009 \pm 3,979
4	Cb.Gm.B4	3,176 \pm 0,311	4,520 \pm 0,783
5	Cb.Gm.B5	90,314 \pm 0,359	3,352 \pm 1,534
6	Cb.Gm.B6	4,235 \pm 1,326	6,704 \pm 2,121
7	Cb.Gm.B7	1,333 \pm 0,801	5,838 \pm 1,013
8	Cb.Gm.B8	6,471 \pm 2,041	6,893 \pm 1,765
9	Cb.Gm.B9	91,137 \pm 0,180	4,670 \pm 0,920

adalah isolat Cb.Gm.B9 (Tabel 1). Ekstrak biomassa dan filtrat yang diperoleh kemudian ditapis aktivitas antioksidannya untuk mengetahui isolat yang memiliki potensi aktivitas antioksidan yang tinggi. Penapisan dilakukan menggunakan satu konsentrasi yaitu 100 μ g/mL sehingga bisa didapat data aktivitas hambatannya.

Persentase hambatan ekstrak etil asetat pada konsentrasi 100 μ g/mL yang memiliki nilai tinggi adalah ekstrak filtrat dari isolat Cb.Gm.B3, Cb.Gm.B5 dan Cb.Gm.B9 dengan persentase hambatan masing-masing yaitu 90,549 \pm 0,580; 90,314 \pm 0,359 dan 91,137 \pm 0,180%. Sedangkan persentase hambatan untuk ekstrak biomassa semua di bawah 50 persen. Ekstrak dari filtrat isolat Cb.Gm.B9 menunjukkan nilai hambatan tertinggi (91,137 \pm 0,180%), sedangkan nilai hambatan ekstrak filtrat terendah ditunjukkan oleh isolat Cb.Gm.B1 (0,196 \pm 0,136%). Persentase hambatan tertinggi dari ekstrak biomassa ditunjukkan oleh isolat Cb.Gm.B1 (11,488 \pm 0,065%), sedangkan nilai hambatan terendah diperoleh dari ekstrak

biomassa isolat Cb.Gm.B5 (3,352 \pm 1,534%) (Tabel 2).

Untuk memastikan isolat yang akan diuji lebih lanjut kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak filtrat dari isolat Cb.Gm.B3, Cb.Gm.B5 dan Cb.Gm.B9 dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan DPPH dengan empat konsentrasi 5, 10, 25 dan 50 μ g/mL untuk mencari IC₅₀-nya. Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C (asam askorbat) pada konsentrasi 3, 6, 9 dan 12 μ g/mL.

Persentase hambatan ekstrak etil asetat pada konsentrasi 100 μ g/mL yang memiliki nilai tinggi adalah ekstrak filtrat dari isolat Cb.Gm.B3, Cb.Gm.B5 dan Cb.Gm.B9. Ekstrak filtrat dari isolat Cb.Gm.B3, Cb.Gm.B5 dan Cb.Gm.B9 dinyatakan aktif sebagai antioksidan, sedangkan untuk ekstrak biomassa dinyatakan tidak aktif sebagai antioksidan karena persentase hambatan untuk ekstrak biomassa semua di bawah 50%. Aktivitas antioksidan dari bahan yang diuji dinyatakan aktif bila menghambat radikal bebas lebih dari 80%, dinyatakan

Tabel 3. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) isolat Cb.Gm.B3, Cb.Gm.B5, Cb.Gm.B9

No.	Kode Isolat	Konsentrasi (µg/mL)	Persen Inhibisi (%)	IC ₅₀ ± SD (µg/mL)
1	Cb.Gm.B3	5	37,444	13,219 ± 0,755
		10	47,309	
		25	70,852	
		50	86,323	
2	Cb.Gm.B5	5	27,803	17,833 ± 0,018
		10	42,937	
		25	68,386	
		50	82,623	
3	Cb.Gm.B9	5	16,816	20,902 ± 0,042
		10	38,229	
		25	69,283	
		50	84,753	
4	Vitamin C	3	38,004	3,049 ± 0,044
		6	82,063	
		9	96,300	
		12	96,749	

Keterangan: Cb = *Cinnamomum burmanni*, Gm = Gunung Mas, B = Ranting batang

sedang keaktifannya bila menghambat 50-80% dan dinyatakan tidak aktif bila menghambat kurang dari 50% (Widowati et al. 2016). Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai persentase inhibisi filtrat lebih besar dibandingkan dengan biomassa, hal ini karena senyawa aktif antioksidan yang dihasilkan lebih banyak terdapat di dalam filtrat (ekstraseluler) dibandingkan di biomassa (intraseluler) (Widowati et al. 2016). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH didasarkan pada kemampuan senyawa aktif antioksidan untuk meredam aktivitas radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk senyawa stabil non-radikal yang berwarna kuning.

Hasil penghitungan IC₅₀ menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ terkecil dari ekstrak filtrat isolat Cb.Gm.B3 sebesar 13,219 ± 0,755 µg/mL (Tabel 3). Namun demikian nilai IC₅₀ dari ekstrak filtrat isolat Cb.Gm.B3 masih lebih tinggi dibandingkan dengan IC₅₀ vitamin C yaitu sebesar 3,049 ± 0,044 µg/mL.

Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidannya. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin kuat. Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, aktivitas antioksidan yang terbaik diantara ketiga isolat yang diuji adalah ekstrak etil asetat filtrat dari isolat Cb.Gm.B3, meskipun masih lebih rendah dibandingkan dengan

Tabel 4. Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etil asetat filtrat isolat CB.Gm.B3

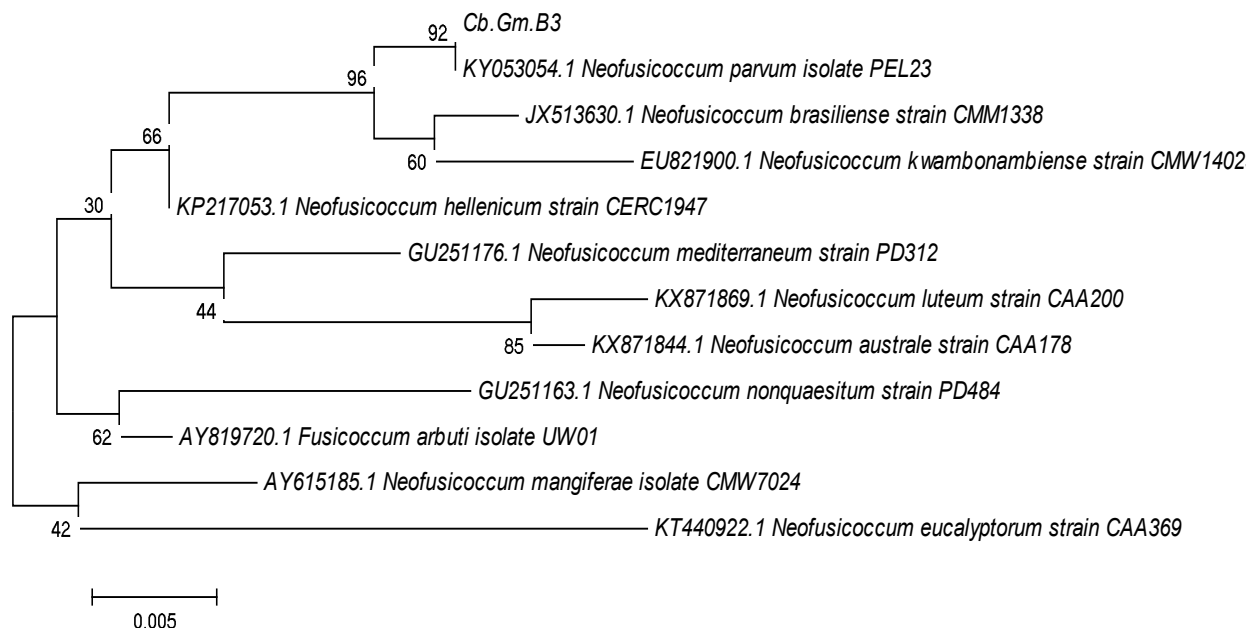
Senyawa kimia	Kandungan
Flavonoid	+
Tannin	+
Fenolik	+

Keterangan: (+) = terdeteksi

aktivitas antioksidan dari vitamin C. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka senyawa uji tersebut akan semakin efektif dalam penangkap radikal bebas (Cholisoh dan Utami 2008). Suatu senyawa dikelompokkan ke dalam sangat aktif sebagai antioksidan jika nilai IC₅₀ < 10, aktif jika nilai IC₅₀ < 100 dan tidak aktif jika nilai IC₅₀ > 100 µg/mL (Putri et al. 2013). Dengan demikian ekstrak etil asetat filtrat dari isolat Cb.Gm.B3 termasuk ke dalam kelompok antioksidan yang aktif.

Hasil uji penapisan fitokimia dari ekstrak filtrat etil asetat isolat Cb.Gm.B3 menunjukkan bahwa di dalam ekstrak filtrat etil asetat Cb.Gm.B3 tersebut ditemukan adanya senyawa flavonoid, tannin dan fenolik (Tabel 4).

Aktivitas biologis dari suatu ekstrak erat kaitannya dengan senyawa kimia yang dikandungnya. Dari hasil penapisan fitokimia diketahui bahwa ekstrak filtrat kapang endofit isolat CB.Gm.B3 mengandung golongan senyawa flavonoid, tannin dan



Gambar 3. Pohon filogenetik isolat Cb.Gm.B3 menggunakan metode *Neighbour-Joining* (NJ)

fenolik (Tabel 4). Senyawa fenol dan flavonoid dilaporkan memiliki peranan positif terhadap aktivitas antioksidan, dimana semakin tinggi kadar senyawa tersebut maka akan semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Ghasemzadeh dan Ghasemzadeh 2011). Senyawa flavonoid juga dilaporkan mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor dan Artanti 2014), sedangkan senyawa tannin yang merupakan salah satu komponen fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Saxena et al. 2013), bahkan lebih efektif dalam menangkap radikal peroksil daripada senyawa fenolik sederhana sehingga tannin bisa dipertimbangkan sebagai antioksidan biologi yang potensial (Gagola et al. 2014).

Identifikasi Molekuler Isolat Cb.Gm.B3

Identifikasi isolat kapang dilakukan secara molekuler berdasarkan analisis genetika secara parsial pada lokus ITS (*Internal Transcribed Spacer*) ribosomal DNA kapang. Berdasarkan data ITS, isolat Cb.Gm.B3 diidentifikasi sebagai *Neofusicoccum parvum*. Hasil BLAST menunjukkan kekerabatan yang tinggi dengan *N. parvum* isolat PEL23, *Accession no*: KY053054.1 [*Max score*: 1026; *Total score*: 1026; *Query coverage*: 100%; *E-value*: 0.0; *Max identities*: 100%].

Analisis lanjut menggunakan pohon kekerabatan filogenetik menunjukkan bahwa isolat Cb.Gm.B3 sangat dekat kekerabatannya dengan *N. parvum* dengan nilai bootstrap 92% (Gambar 3). Berdasarkan hasil ini dilihat kekerabatannya dengan beberapa spesies kapang dari tanaman hutan yang telah berhasil dihimpun oleh Lopes et al. (2016) untuk membuat pohon filogenetiknya. *N. parvum* merupakan kapang yang bersimbiosis dengan tanaman sebagai endofit atau fitopatogen. Beberapa spesies *Neofusicoccum* adalah patogen bagi suatu tanaman, tetapi spesies yang lain mempunyai hubungan simbiosis mutualistik dengan inangnya. Perubahan mikroba endofit menjadi fase patogen bisa diakibatkan karena adanya tekanan seperti tekanan kekeringan, fluktuasi suhu ekstrim, kekurangan nutrisi dan kerusakan mekanis (Slippers dan Wingfield 2007). Sebagai contoh *N. parvum* adalah yang paling banyak ditemukan di tanaman *Tibouchina urvilleana*, akan tetapi memiliki sifat tidak agresif. Berbeda dengan *N. mangiferae* yang walaupun sedikit ditemukan pada inang yang sama akan tetapi memiliki tingkat patogenitas yang sangat tinggi (Heath et al. 2011).

KESIMPULAN

Bioproduksi kapang endofit hasil

isolasi dari batang kayu manis terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Hasil bioproduksi kapang endofit Cb.Gm.B3 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu $13,219 \pm 0,755 \mu\text{g/mL}$. Hasil identifikasi molekuler terhadap isolat kapang tersebut diketahui memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan *N. parvum* isolat PEL23 (No. akses: KY053054.1).

SARAN

Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa kimia hasil bioproduksi kapang endofit Cb.Gm.B3 untuk mengetahui struktur kimia senyawa aktif tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Kemristekdikti) yang telah memberikan bantuan beasiswa melalui beasiswa Program Gelar tahun 2016 (SK Nomor 338/M/KPT/2016) dan mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akmalasari I, Purwati ES, Dewi RS (2013) Isolasi dan identifikasi jamur endofit tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Biosfera* 30:82-89. Doi: 10.20884/1.mib.2013.30.2.131
- Banjarnahor S, Artanti N (2014) Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones* 23:239-244. doi: 10.13181/mji.v23i4.1015
- Cholisoh Z, Utami W (2008) Aktivitas penangkapan radikal ekstrak etanol 70% biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacon* 9:33-40
- Dai C, Yu B, Li X (2008) Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *Afr J Biotechnol* 7:3505-3510
- Dudeja SS, Giri R, Saini R, Suneja-Madan P, Kothe E (2012) Interaction of endophytic microbes with legumes. *J Basic Microbiol* 52:248-260. doi: 10.1002/jobm.201100063
- Ferry Y (2013) Prospek pengembangan kayu manis (*Cinnamomum burmanii* L) di Indonesia. *SIRINOV* 1:11-20
- Fransworth NR (1966) Biological and phytochemical screening of plant. *J Pharm Sci* 55:225-265. doi: 10.1002/jps.2600550302
- Gagola C, Suryanto E, Wewengkang D (2014) Aktivitas antioksidan dari ekstrak fenolik cortex umbi ubi kayu (*Manihot esculenta*) daging putih dan daging kuning yang diambil dari kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud. *Pharmacon J Ilmiah Farmasi* 3:127-133
- Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N (2011) Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J Med Plants Res* 5:6697-6703. doi: 10.5897/JMPR11.1404
- Ginting RCB, Sukarno N, Widyastuti U, Darusman LK, Kanaya S (2013) Diversity of endophytic fungi from red ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) plant and their inhibitory effect to *Fusarium oxysporum* plant pathogenic fungi. *Hayati* 20:127-137. doi: 10.4308/hjb.20.3.127
- Harborne JB (1987) Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Edisi kedua. Terjemahan. Padmawinata K, Soediro I, Niksolihin S. Penerbit ITB, Bandung
- Heath RN, Roux J, Slippers B, Drenth A, Pennycook SR, Wingfield BD, Wingfield MJ (2011) Occurrence and pathogenicity of *Neofusicoccum parvum* and *N. mangiferae* on ornamental *Tibouchina* species. *For Path* 41:48-51. doi: 10.1111/j.1439-0329.2009.00635.x
- Jakhetia V, Patel R, Khatri P, Pahuja N, Garg S, Pandey A, Sharma S (2010) Cinnamon: A pharmacological review. *J Adv Sci Res* 1:19-23
- Kusari S, Hertweck C, Spiteller M (2012) Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chem Biol* 19:792-798. doi: 10.1016/j.chembiol.2012.06.004
- Lopes A, Barradas C, Phillips AJL, Alves A (2016) Diversity and phylogeny of *Neofusicoccum* species occurring in forest and urban environments in Portugal. *Mycosphere* 7:906-920. doi: 10.5943/mycosphere/si/1b/10
- Maehara S, Ikeda M, Haraguchi H, Kitamura C, Nagoe T, Ohashi K, Shibuya H (2011) Microbial conversion of curcumin into colorless

- hydroderivatives by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. associated with *Curcuma longa*. Chem Pharm Bull 59:1042-1044. doi: 10.1248/cpb.59.1042
- Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol 26:211-219
- Praptiwi, Ilyas M, Wulansari D, Agusta A (2015) Antibacterial screening of the culture of endophytic fungal extracts isolated from cinnamon stick (*Cinnamomum burmanni* [Nees & T. Nees] Blume). J Teknologi Indones 38:33-41. doi: 10.14203/jti.v38i1.159
- Priani SE, Darusman F, Humanisya H (2014) Formulasi sediaan emulgel antioksidan mengandung ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees Ex. Bl.). Prosiding SNaPP 2014 Sains, Teknologi dan Kesehatan 4:103-110
- Putri IJ, Fauziyah, Elfita (2013) Aktivitas antioksidan daun dan biji buah nipah (*Nypa fruticans*) asal pesisir Banyuasin Sumatera Selatan dengan metode DPPH. Maspari J 5:16-21
- Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A (2013) Phytochemistry of medicinal plants. J Pharmacogn Phytochem 1:168-182
- Slippers B, Wingfield MJ (2007) Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. Fungal Biol Rev 21:90-106. doi: 10.1016/j.fbr.2007.06.002
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 28:2731-2739. doi: 10.1093/molbev/msr121
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor I (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp 315-322. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, (Eds). PCR Protocols: A Guide to Method and Applications. Academic Press, New York
- Widowati T, Bustanussalam, Sukiman H, Simanjuntak P (2016) Isolasi dan identifikasi kapang endofit dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai penghasil antioksidan. Biopropal Indust 7:9-16