



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ISOLAT PLC2 KAPANG ENDOFIT
TANGKAI DAUN TANAMAN KAYU JAWA (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.)
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi

**NAMA : MONALISA
NIM : 15330016**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
MARET 2020**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : MONALISA

NPM : 15330016

Tanggal :

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Monalisa

NPM : 15330016

Mahasiswa : Farmasi

Tahun Akademik : 2019/2020

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian Surat Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, 5 Februari 2020

Monalisa

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Monalisa
NPM : 15330016
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang
Endofit Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Dengan Metode DPPH
(2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Institut Sains Dan Teknologi Nasional

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Saiful Bahri, M.Si (.....)
Pembimbing II : Amelia Febriani, M.Si, Apt (.....)
Penguji : Subaryanti, M.Si.Apt (.....)
Penguji : Ika Maruya. SP, M.Si (.....)
Penguji : Erwi Putri Setyaningsih, M.Si.,Apt (.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal :

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Program Studi Farmasi pada Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

- a) Ibu Dr. Refdanita, M. Si., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.
- b) Ibu Jenny Pontoan, M. Farm., Apt selaku Kepala Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.
- c) Bapak Saiful Bahri, S,Si.,M.Si dan Ibu Amelia Febriani, S.Farm.,M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan arahan, ilmu, saran dan dukungan kepada penulis selama penelitian hingga menyusun skripsi.
- d) Bapak Saiful Bahri, S,Si.,M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik Studi Farmasi Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.
- e) Bapak dan Ibu Dosen Pengajar serta seluruh staf Program Studi Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta, atas bantuan dan dukungannya selama masa perkuliahan dan penyusunan tugas akhir.
- f) Kedua orang tua tercinta Bapa Bpk Monang Sidabutar dan Mama Ibu Posma Manurung yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi, dukungan baik material maupun moril, serta perhatian, dan doa yang tiada henti kepada penulis.
- g) Adik-adik tersayang Dewi Michelle, Magdalena dan Indah Rahel Hartati yang membantu, menghibur dan memberi semangat agar tidak mudah menyerah.

- h) Sahabat-sahabat terbaik Renita, Nesya, Shella, Rodiah, Fariana, Andry Maulana, Moh Irhas, Moh Benny, Arga, Fauzi, Riswan dan teman-teman lainnya yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang selalu ada disetiap langkah saya dalam menyelesaikan skripsi ini membantu mengajarkan pengetahuan yang telah mereka lalui sebelumnya dalam menyelesaikan skripsi.
- i) Teman-teman seperjuangan penelitian Vidya, Vega, Liza, Ida, Monic, Lilin, Yayu, Satrio, Atika dan Deny yang saling mendukung dan membantu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
- j) Seluruh pihak yang telah mendukung dan membantu selama proses penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Februari 2020

Penulis
Monalisa

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Institut Sains Dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Monalisa

NPM : 15330016

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Nonexclusive Royalty- Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*) *soft copy* dan *hard copy*, merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal :

Yang menyatakan

(.....)

ABSTRAK

Nama : Monalisa
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Studi fitokimia tanaman kayu jawa dilaporkan mengandung senyawa golongan karbohidrat, steroid, alkaloid, serta tanin dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya kerusakan sel akan dihambat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada isolat PLC2 kapang endofit dari tangkai daun kayu jawa. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pada penelitian ini dilakukan tahapan peremajaan, karakteristik, fermentasi, ekstraksi, skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan menghitung nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) serta AAI (*Antioxidant Activity Index*). Pada uji aktivitas antioksidan digunakan Vitamin C sebagai kontrol positif. Isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) memiliki aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} yang didapat dari penelitian ini pada ekstrak kapang endofit isolat PLC2 diperoleh biomassa 225,77 ppm pada supernatan 59,73 ppm dengan nilai AAI biomassa 0,088 dan pada supernatan 0,334.

Kata Kunci: Kapang Endofit, *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr), Skrining Fitokimia, Aktivitas Antioksidan, DPPH, IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*), AAI (*Antioxidant Activity Index*)

ABSTRACT

Name : Monalisa
Study Program : Pharmacy
Title : Antioxidants Activity Test of PLC2 Isolate Endophytic Mold from Leaf Stalk Kayu Jawa Plant (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. With DPPH method (2,2 – Difenil-1-Pikrilhydrazil)

Phytochemical studies of Javanese wood plants are reported to contain carbohydrate-class compounds, steroids, alkaloids, as well as tannins and flavonoids that are potentially antioxidant. Antioxidants are compounds that can inhibit the oxidation reaction, by binding free radicals and highly reactive molecules. Consequently cell damage will be inhibited. The purpose of this research is to know the antioxidant activity in PLC2 of endophyte isolates from Javanese wood leaf stalks. Determination of antioxidant activity is done using the DPPH method. In this study carried out stages of rejuvenation, characteristics, fermentation, extraction, screening phytochemistry and test antioxidant activity by calculating the value of IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50) as well as AAI (Antioxidant Activity Index). At Test antioxidant activity is used Vitamin C as a positive control. Isolates PLC2 mold endophyte stem leaves Java wood plant (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Antioxidant activity. The IC₅₀ value derived from this study on endophytic extract of isolates PLC2 acquired biomass 225.77 in the 59.73 the supernatant with the value of the 0.088 biomass AAI and in the 0.334 the supernatant.

Key words: Endofit mold, *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr), phytochemical screening, antioxidant activity, DPPH, IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50*), AAI (*Antioxidant Activity Index*)

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kapang Endofit.....	5
2.2 Metabolit Sekunder	5
2.3 Fermentasi Kapang Endofit.....	6
2.4 Kurva Tumbuh	6
2.4.1 Fase Lag	7
2.4.2 Fase Eksponensial / Logaritmik.....	7
2.4.3 Fase Stasioner	7
2.4.4 Fase Kematian.....	7
2.5. Kayu Jawa	7
2. 6 Senyawa Metabolit Sekunder Fungi Endofit Sebagai Antioksidan	9
2.7 Radikal Bebas.....	9
2.7.1 Definisi Radikal Bebas	9
2.7.2 Sumber Radikal Bebas.....	10
2.7.3 Efek Radikal Bebas.....	10
2.8 Antioksidan	10
2.8.1 Definisi Antioksidan.....	10
2.8.2 Klasifikasi Antioksidan.....	11
2.8.3 Metode Uji Antioksidan.....	13
2.9 Vitamin C	15
2. 10 Spektrofotometer Uv-Vis	16
2. 10.1 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis	18
2.10.2 Kegunaan Spektrofotometri UV-Vis	18

BAB 3	20
METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat Penelitian.....	20
3.3 Prinsip Penelitian.....	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	21
3.4.2 Pembuatan Media Pertumbuhan	22
3.4.3 Peremajaan Isolat PLC2 Kapang Endofit	22
3.4.4 Karakteristik Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	22
3.4.5 Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit	23
3.4.6 Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	23
3.4.7 Skrining Senyawa Metabolit Sekunder	24
3.4.8 Analisis Aktivitas Antioksidan	25
3.4.8.1 Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	25
3.4.8.2 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kapang Endofit.....	26
3.4.8.3 Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C.....	27
3.4.8.4 Analisis Data	28
3.5 Tahap Alur Penelitian.....	30
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Hasil Karakterisasi Isolat PLC 2 Kapang Endofit.....	31
4.2 Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit	33
4.3 Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat PLC 2 Kapang Endofit	34
4.4 Skrining Senyawa Metabolit Sekunder	35
4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Dengan Metode DPPH	37
BAB 5	40
KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Kurva Tumbuh	6
Gambar 2. 2 Tanaman Kayu Jawa	8
Gambar 2. 3 Reaksi Antara Antioksidan dan Molekul DPPH	14
Gambar 2. 4 Struktur Vitamin C	15
Gambar 2. 5 Alat Spektrofotometer UV-Vis (single beam)	18
Gambar 4. 1 Pengamatan Mikroskopis Isolat PLC2 Kapang Endofit	31
Gambar 4. 2 Pengamatan Makroskopis Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	32
Gambar 4. 3 Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit	33

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penentuan Nilai IC50	15
Tabel 3. 1 Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan % Inhibisi	28
Tabel 4. 1 Hasil Ekstrak Isolat PLC2 Kapang Endofit	35
Tabel 4. 2 Hasil Skrining Fitokimia Isolat PLC2 Kapang Endofit	36
Tabel 4. 3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kapang Endofit PLC2 dan Vitamin C	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Permohonan Izin Penelitian Lab.....	47
Lampiran 2. Sertifikat Analisis Bahan	49
Lampiran 3. Skema Tahapan Karakteristik Kapang Endofit PLC2	51
Lampiran 4. Skema Tahapan Fermentasi.....	52
Lampiran 5. Skema Tahapan Ekstraksi Isolat PLC2 Kapang Endofit	53
Lampiran 6. Skema Uji Skrining Fitokimia Isolat PLC2 Kapang Endofit	54
Lampiran 7. Karakteristik Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	55
Lampiran 8. Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	57
Lampiran 9. Skrining Fitokimia Ekstrak Kapang Endofit	58
Lampiran 10. Alat dan Bahan	60
Lampiran 11. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	64
Lampiran 12. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Biomassa Isolat PLC2.....	65
Lampiran 13. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Isolat PLC2	66
Lampiran 14. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	67
Lampiran 15. Hasil Spektra Larutan DPPH 0,002%.....	68
Lampiran 16. Perhitungan Dalam Uji Antioksidan.....	69
Lampiran 17. Perhitungan % Inhibisi, IC50 dan AAI Vitamin C.....	72
Lampiran 18. Perhitungan %Inhibisi, IC50 dan AAI Ekstrak Kapang Endofit Supernatan.....	74
Lampiran 19. Perhitungan %Inhibisi, IC50 dan AAI Ekstrak Kapang Endofit Biomassa	76
Lampiran 20. Hasil Ekstrak Isolat PLC2 Kapang Endofit.....	78

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Endofit berasal dari kata 'endon' yang berarti di dalam dan 'phyton' yaitu tanaman, sehingga endofit dikatakan sebagai mikroorganisme (bakteri, jamur, alga) yang tumbuh berkoloni dalam jaringan tanaman (internal) dan pembuluh xylem namun tidak menimbulkan efek negatif yang nyata seperti penyakit tanaman dan perubahan morfologis (Hidayat *et al.*, 2018). Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanpa membahayakan tanaman inang. Mikroba endofit terdapat di jaringan tanaman seperti bunga, buah, batang, daun, akar dan biji serta merupakan pelindung bagi tanaman inang dari stress lingkungan dan kompetisi mikroba (Widowati *et al.*, 2016).

Kapang endofit mempunyai hubungan mutualisme dengan inangnya diantaranya, melindungi inang dari patogen, memiliki metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, antibakteri dan antioksidan. Kapang endofit merupakan sumber bahan organik yang kaya dengan aktivitas biologis yang menarik dan keanekaragaman yang tinggi. Kapang endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder, misalnya kapang endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman kayu jawa. Eksplorasi tentang kapang endofit dari tanaman akan bermanfaat untuk mencari jenis-jenis kapang endofit yang memiliki kemampuan spesifik dan unik. Berbagai jenis tanaman dapat berpotensi sebagai sumber isolat kapang endofit (Hasyiyati *et al.*, 2017).

Tanaman yang menjadi inang untuk kapang endofit salah satunya adalah tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromendalica* (Houtt.) Merr.) adalah tumbuhan dari keluarga Anacardiaceae, merupakan salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia khususnya di Sulawesi. Pada masyarakat suku Moronene tanaman obat tradisional ini memiliki nama lokal “Olodawa”, kayu jawa ini juga menjadi tumbuhan obat yang khas digunakan oleh masyarakat suku Moronene di Desa Rau-Rau Sulawesi Tenggara. Kulit batang kayu jawa digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan muntah darah dan

perawatan pasca melahirkan. Di pulau wawonii masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini sebagai bahan obat penutup luka, perawatan pasca persalinan dan luka dalam dengan ditumbuk, ditempel, direbus atau diminum (Ismail *et al.*, 2016).

Berdasarkan studi fitokimia kulit batang tanaman kayu jawa telah dilaporkan mengandung senyawa golongan karbohidrat, steroid, alkaloid, glikosida jantung, terpenoid, tanin dan flavonoid (Manik *et al.*, 2013). Di sisi lain studi farmakologi telah dilaporkan oleh peneliti-peneliti dari India dan Bangladesh bahwa ekstrak metanol kulit batang kayu jawa memiliki aktivitas biologi seperti antibakteri, antioksidan, analgesik, aktivitas hipotensi, aktivitas biologi, aktivitas penyembuh luka (Alam *et al.*, 2012). Selain itu fraksi n-heksan, diklorometana dan etil asetat kulit batang dan daun tumbuhan kayu jawa memiliki aktivitas antioksidan antimikroba, dan trombolitik. Fraksi etil asetat kulit batang kayu jawa menunjukkan aktivitas antioksidan paling besar dengan IC_{50} sebesar $3,8 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$ (Manik *et al.*, 2013). Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada biomolekul (misalnya lipid, protein, DNA) dan akhirnya menimbulkan beberapa penyakit, seperti kanker, aterosklerosis, diabetes dan berbagai penyakit degeneratif lainnya pada manusia (Ivanišová *et al.*, 2013).

Salah satu senyawa yang dapat menghambat terjadinya kerusakan oksidatif tersebut adalah antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas. Sebagai bahan aktif, antioksidan digunakan untuk melindungi kulit dari kerusakan akibat oksidasi (Masaki, 2010). Antioksidan alami selain dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas juga mampu memperlambat terjadinya penyakit kronik yang disebabkan penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) terutama radikal hidroksil dan radikal superoksida (Wahdaningsih *et al.*, 2011). Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas secara terus menerus terbentuk didalam tubuh, jika jumlahnya didalam tubuh sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasikan lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker (Handayani *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Kusumaningrum (2018) yang mengisolasi kapang endofit dari tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) sehingga diperoleh beberapa isolat kapang endofit dengan kode PLC1A, PLC1B, PLC2, PLC3, PLC4, PLC5, penamaan isolat ini diperoleh dari nama latin tangkai yang berarti petiolus dan *Lannea coromandelida* yang berarti kayu jawa. Pemilihan isolat PLC2 karena diduga isolat ini memiliki kategori yang kuat dilihat pada masa tumbuhnya. Isolat PLC2 memiliki aktivitas antibakteri yang telah diuji oleh Sedyoningrum (2019). Dari isolat ini perlu diuji aktivitas lainnya selain aktivitas antibakteri. Maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan dari isolat PLC2. Pada pengujian sebelumnya oleh Lubis (2017) telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada kapang endofit akar tanaman kayu jawa dengan metode DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dikarenakan metode ini mudah, sederhana, cepat, peka serta hanya memerlukan sedikit sampel.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ?
2. Berapa nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) dan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) yang dihasilkan oleh isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
2. Untuk mengetahui nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) dan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) yang dihasilkan oleh isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.).

1.4 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini diharapkan akan menambah ilmu dan wawasan bagi pembaca dan menjadi sumber referensi dalam proses metode penelitian mengenai Uji Aktifitas Antioksidan Kapang Endofit PLC2 dari tangkai daun tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dengan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidazil).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kapang Endofit

Kapang atau jamur adalah organisme yang berbentuk benang, multiseluler, tidak berklorofil, dan pertumbuhannya pada substrat mudah dilihat penampakannya yang berserabut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula bewarna putih tetapi jika spora telah timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Berbeda halnya dengan sel khamir (ragi), kapang tampak jelas kelihatan walau dengan pembesaran kuat, maka kapang tampak menyerupai struktur hutan kecil (Wulandari, 2014).

Kapang endofit merupakan kapang yang seluruh siklus hidupnya berlangsung didalam tubuh inangnya sendiri dan mampu membentuk koloni tanpa membahayakan inangnya. Kapang endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dibutuhkan manusia. Metabolit sekunder yang dihasilkan kapang endofit rata-rata identik dengan senyawa yang dihasilkan oleh tanaman inangnya. Pada saat ini kapang telah di perhitungkan sebagai sumber baru penghasil metabolit sekunder yang berpotensi cukup tinggi untuk dimanfaatkan di bidang kesehatan terutama dalam pengobatan (Agusta, 2009).

2.2 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah molekul-molekul kecil, bersifat spesifik, mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru. Senyawa metabolit sekunder yang umum terdapat pada tanaman adalah : alkaloid, flavanoid, steroid, saponin, terpenoid dan tannin. Metabolit sekunder dihasilkan melalui reaksi sekunder dari metabolit primer (bahan organik primer) seperti karbohidrat, lemak, dan protein.

Tumbuh-tumbuhan yang mengandung bahan organik primer kemungkinan besar mengandung bahan organik sekunder. Enzim merupakan suatu kelompok protein.

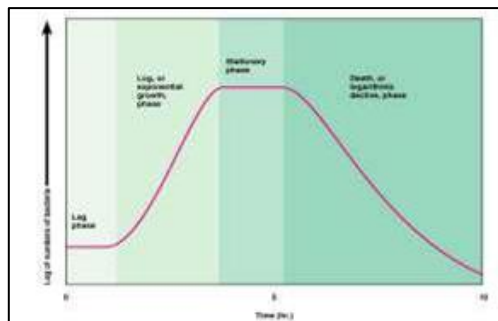
Mikroba Endofit memegang peranan penting dalam kehidupan tanaman. Organisme renik yang menumpang itu dapat memberi ketahanan pada tanaman, misalnya terhadap penyakit atau serangan herbivora, meningkatkan pertahanan tubuh, memungkinkan tanaman inang bertahan dalam kondisi yang buruk. Sebaliknya, keberadaan endofit juga akan memberikan dampak terhadap kondisi lingkungan, populasi lingkungan dan ekosistem (Ergina, 2014).

2.3 Fermentasi Kapang Endofit

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen) atau proses yang memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Dalam bioproses, fermentasi memegang peranan penting karena merupakan proses utama bagi produksi senyawa-senyawa berbasis biologi. Senyawa yang dihasilkan merupakan hasil metabolit dari mikroba seperti antimikroba, asam-asam organik, aldehyd dan alkaloid (Puspita sari. 2008)

2.4 Kurva Tumbuh

Kurva Pertumbuhan mikroba merupakan gambaran dari pertumbuhan secara bertahap sejak awal hingga terhenti mengadakan kegiatan. Kurva ini umumnya terbagi dalam beberapa fase yaitu:



Gambar 2. 1 Kurva Tumbuh

(Sumber: Pratiwi. 2008)

2.4.1 Fase Lag

Selama fase ini pertumbuhan individu tidak secara nyata terlihat. Karena fase ini dapat juga dinamakan sebagai fase adaptasi (penyesuaian) ataupun fase pengaturan jasad untuk suatu kegiatan dalam lingkungan yang mungkin baru sehingga bentuk kurva selama fase ini umumnya mendatar.

2.4.2 Fase Eksponensial / Logaritmik

Setelah setiap individu menyesuaikan diri dengan lingkungan baru selama fase lag. Perubahan bentuk dan peningkatan jumlah individu akan terjadi sehingga bentuk kurva meningkat dengan tajam (menanjak).

2.4.3 Fase Stasioner

Pengurangan sumber nutrisi serta faktor-faktor lain yang terkandung di dalam jasadnya sendiri, mencapai puncak pertumbuhan pada titik yang tidak bisa dilampaui lagi, sehingga selama fase ini gambaran kurva akan mendatar. Populasi jasad hidup dalam keadaan secara maksimal stasioner yang konstan disebut konsentrasi M (Pratiwi. 2008).

2.4.4 Fase Kematian

Fase kematian, yaitu pada saat jumlah-jumlah sel mati atau inaktif lebih banyak daripada sel-sel hidup yang aktif membelah.

2.5. Kayu Jawa

Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) atau yang disebut aju jawa merupakan tanaman dengan daun yang mudah berganti, berkayu lunak, akar relatif tertancap dalam tanah, dapat tumbuh tinggi hingga 14 m. Kulit batang berwarna coklat keabu-abuan. Daun majemuk cukup padat pada ujung cabang pohon. Daun *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr). Berbentuk membujur atau elips, akuminatus, dengan panjang sekitar 2,5-5 cm. Bunga berukuran kecil, uniseksual, hijau kekuning-kuningan, dan terdapat pada cabang tanpa daun. *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) nama

lokal tanaman ini di Sulawesi tamatte, kayu cina, kayu jawa, kedondong laki (Tangerang) Pohon Reo (flores) dan dapat ditemukan di wilayah Asia beriklim tropis dan sedang (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dapat tumbuh di segala jenis tanah selama masih terdapat teraliri oleh air tanaman ini tumbuh dengan baik saat mendapatkan matahari penuh (Duppala, 2017).

Taksonomi tumbuhan *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) (Duppala.2017):

Kingdom : Plantae
Phylum : Magnoliophyta
Class : Magnolipsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Sapindales
Family : Anacardiaceae
Genus : *Lannea* A.Rich
Spesies : *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.



Gambar 2. 2 Tanaman Kayu Jawa

(Sumber : Anggrayni, 2019)

2. 6 Senyawa Metabolit Sekunder Fungi Endofit Sebagai Antioksidan

Jamur endofit yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder dengan tanaman inangnya, membuka peluang untuk menghasilkan metabolit sekunder. Apabila jamur endofit yang diisolasi dari suatu tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu memanen tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk menanamnya. Contoh fungi endofit penghasil antioksidan yaitu *Pestalotiposis microspora* yang diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis* yang menghasilkan senyawa Pestacin dan iospestacin berkhasiat sebagai antioksidan (Radji, 2005). Penelitian lain dilakukan oleh Murthy (2011), yang berhasil mengisolasi fungi dari tumbuhan *Lobelia nicotianifolia* yaitu *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penecillium* dan *Mucor* yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Hasil analisis fitokimia menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang tergolong sebagai flavonoid dan terdapat hubungan positif diantara kadar fenolik dan kapasitas antioksidan dari ekstrak fungi.

2.7 Radikal Bebas

2.7.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu senyawa molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang timbul memang tidak begitu bahaya. Akan tetapi, bila elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya. Umumnya, senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul-molekul besar (biomakromolekuler), seperti lipid, maupun DNA (Winarsi, 2007).

2.7.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal di dalam tubuh. Sementara radikal eksogen berasal dari bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit (Kurniasih *et al.*, 2015). Radikal bebas juga dijumpai pada lingkungan, yang berasal dari logam (misalnya besi, tembaga), asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet dari matahari maupun radiasi (Panjaitan *et al.*, 2014).

2.7.3 Efek Radikal Bebas

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh (Kurniasih *et al.*, 2015). Namun, ketika kadarnya di dalam tubuh melebihi batas normal maka radikal bebas menjadi suatu senyawa yang berbahaya bagi manusia. Akumulasi radikal bebas yang terjadi akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif sehingga memicu berbagai macam penyakit kronis dan degeneratif. Penyakit yang dapat ditimbulkan dari adanya stres oksidatif diantaranya adalah kanker, gangguan autoimun, penuaan dini, katarak, rheumatoid arthritis, jantung dan penyakit neurodegenerative (Sari, 2015).

2.8 Antioksidan

2.8.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi electron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredakan dampak negatifnya (Rizkayanti *et al.*, 2017). Bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Rosahdi *et al.*, 2013).

2.8.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menangkal atau meredakan dampak negatif dari antioksidan didalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas dari senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu :

1. Antioksidan Primer

Senyawa yang mampu dengan cepat memberikan atom hydrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga berubah menjadi senyawa stabil dan mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai (polimerasi). Antioksidan primer juga disebut sebagai antioksidan enzimatis.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder juga disebut antioksidan eksogen atau non enzimatis. Mekanisme kerjanya dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas atau dengan menangkapnya sehingga efek negatif radikal bebas bisa dicegah.

Sumber makanan yang mengandung antioksidan sekunder adalah sayuran, buah-buahan, dan daging merah.

3. Antioksidan Tersier

Enzim DNA repair dan metionin sulfoksida reductase merupakan kelompok antioksidan tersier. Enzim-enzim ini berfungsi sebagai perbaikan biomolekuler sel yang rusak akibat efek radikal bebas.

4. Antioksidan Alami

Antioksidan yang berasal dari alam didapatkan dari tumbuhan dan telah diisolasi seperti vitamin C, vitamin E, karoten, polineol, bioflavonoid dan katekin.

5. Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik digunakan untuk memelihara kualitas makanan karena proses oksidasi terutama pada saat penyimpanan. Contoh dari antioksidan sintetik adalah BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dan TBHQ (*Tertier Butyl Hydroxy Quinon*) (Suhartono, 2016).

2.8.3 Metode Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan suatu senyawa kimia yang dapat dilakukan dengan beragam metode. Beberapa metode yang lazim digunakan antara lain :

1. ABTS (*2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6)-sulfonik acid*)

Garam diamonium ABTS (*2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6)-sulfonik acid*) adalah senyawa kimia yang digunakan untuk mengamati kinetika reaksi spesifik, ABTS sering juga digunakan oleh industry makanan dan peneliti pertanian untuk mengukur aktivitas antioksidan tumbuhan. Senyawa radikal bebas ABTS merupakan senyawa yang diperoleh dari hasil oksidasi kalium persulfat dengan garam diamonium ABTS.

2. FRAP (*Ferrie Reducing Ability of Plasma*)

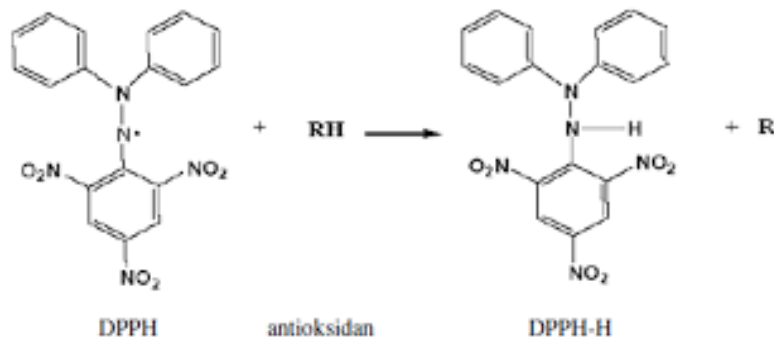
Metode ini merupakan salah satu metode yang cepat dan sangat berguna untuk analisa rutin. Aktivitas antioksidan diperkirakan dengan mengukur peningkatan absorbansi akibat terbentuknya ion Fe dari pereaksi FRAP yang mengandung TPTZ (*2,4,6-tri(2-*pidil*)-triazin*) dari $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada 568 nm.

3. DPPH (*2,2difenil-1-pikrihidazil*)

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah *2,2difenil-1-pikrihidazil* (DPPH) (Tristantini *et al.*, 2016). DPPH adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan metanol. Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan berbagai tanaman obat. Hal ini dikarenakan dalam pengujiannya yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti uji lainnya (Masrifah *et al.*, 2017). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup

dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun (Tristantini *et al.*, 2016).

Aktivitas antioksidan sampel diukur melalui pengukuran intensitas serapan setiap sampel setelah ditambahkan DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini *et al.*, 2016).



Gambar 2. 3 Reaksi Antara Antioksidan dan Molekul DPPH

(Sumber: Tristantini *et al.*, 2016)

Kemampuan suatu senyawa untuk menangkap radikal bebas dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration 50%*). Nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration 50%*) menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) terhadap aktivitas penangkapan radikal rata-rata. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka senyawa

tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik (Purwaningsih, 2012).

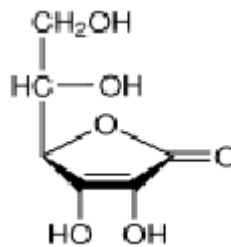
Tabel 2. 1 Penentuan Nilai IC50

Intensitas	Nilai IC₅₀
Sangat kuat	<50 $\mu\text{g/ml}$
Kuat	50 – 100 $\mu\text{g/ml}$
Sedang	100 – 150 $\mu\text{g/ml}$
Lemah	150 -250 $\mu\text{g/ml}$
Sangat Lemah	200 – 1000 $\mu\text{g/ml}$

(Bahriul *et al*, 2014)

2.9 Vitamin C

Vitamin C dengan nama lain *Ascorbic Acid* atau L-Asam askorbat, memiliki rumus kimia $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ serta berat molekul 176, 13. Vitamin C berbentuk hablur atau serbuk putih atau agak kuning oleh pengaruh cahaya lambat laun menjadi bewarna gelap. Dalam keadaan kering, stabil di udara, dalam larutan cepat teroksidasi, melebur pada suhu lebih kurang 190°C . Vitamin C mudah larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzene (Depkes RI, 2000).



Gambar 2. 4 Struktur Vitamin C

(Sumber : Farmakope Indonesia Edisi V)

Vitamin C pertama kali dimurnikan oleh ahli fitokimia Albert Szent-Gyorgyi yang bekerja di Cambridge, Inggris. Beliau merumuskan suatu komponen yang disebut asam heksurat yang akhirnya menjadi asam askorbat (Vitamin C generasi pertama). Vitamin C adalah nutrient yang larut dalam air merupakan senyawa organik yang harus

ada pada diet dalam jumlah tertentu untuk mempertahankan integritas dan metabolisme tubuh yang normal. Nama kimia Vitamin C dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C disintesis dari D-glukosa dan D-galaktosa dalam tumbuh-tumbuhan dan sebagian besar hewan dalam keadaan kering cukup stabil, tapi dalam keadaan larut, vitamin ini mudah rusak oleh proses oksidasi terutama bila terkena panas. Oleh karena sangat mudahnya teroksidasi panas, cahaya dan logam ini maka vitamin C masuk kedalam golongan antioksidan, Vitamin C diabsorpsi melalui saluran cerna, pada bagian atau usus halus secara difusi lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Vitamin C terdistribusi luas dalam jaringan tubuh. Eliminasi vitamin C melalui urin setelah ekskresi dari ginjal. Urin terbentuk utuh dan bentuk garam sulfatnya terjadi apabila kadarnya dalam darah melewati ambang dan rangsang ginjal 1,4 mg % (Pakaya, 2014).

Kebutuhan vitamin C biasa dikenal dengan RDA (*recommended dietary allowance*). Vitamin C ialah 60 mg atau setara dengan sebuah jeruk. Vitamin C berperan sebagai antioksidan dan penghambat radikal bebas. Radikal bebas distimulasi dari paparan sinar UV yang meningkat dari matahari. Radiasi UV menembus kedalam kulit sebagai agen reaktif. Efek dari radikal bebas ini terlihat cepat dalam proses pengerutan dan deformitas kulit. Efek dari radikal bebas ini terlihat cepat dalam proses pengerutan dan deformitas kulit. Vitamin C membantu tubuh dalam proses pengerutan dan deformitas kulit. Vitamin C membantu tubuh dalam menetralkan radikal bebas ini sebagai Peredam atau pelindung dari paparan ultraviolet. Vitamin C bermanfaat sebagai tabir surya dengan cara diserap sampai ke sel dan bertahan 30-36 jam pada kulit. Vitamin C dapat mereduksi superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksida dan oksigen reaktif lain yang dapat muncul baik secara intraseluler maupun ekstraseluler (Pakaya, 2014).

2. 10 Spektrofotometer Uv-Vis

Ultraviolet jauh memiliki rentang panjang gelombang $\pm 10 - 200$ nm, sedangkan ultraviolet dekat memiliki rentang panjang gelombang $\pm 200-400$ nm. Cahaya UV tidak bisa dilihat oleh manusia, namun beberapa hewan, termasuk burung, reptil dan

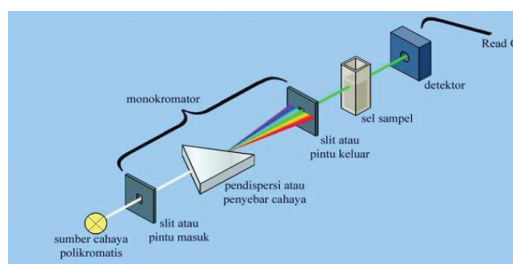
serangga seperti lebah dapat melihat sinar pada panjang gelombang UV. Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas). Sinar ultralembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorbansi.

Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartati, 2017)

Prinsip spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang ditransmisikan melalui larutan sebagian energi cahaya tersebut diserap. Besarnya molekul –molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui suatu poin dimana persentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi *phototube* (Ganjar dan Rohman, 2007).

2. 10.1 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. Double-beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel



Gambar 2. 5 Alat Spektrofotometer UV-Vis (single beam)

(Sumber : Suhartati, 2017)

2.10.2 Kegunaan Spektrofotometri UV-Vis

Pada umumnya spektrofotometri ultraviolet dalam analisis senyawa organik digunakan untuk :

1. Menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonyugasi dan ausokrom dari suatu senyawa organik.
2. Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa.
3. Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004).

2.10.3 Komponen-Komponen Pokok Spektrofotometer

Berikut ini adalah urian bagian-bagian spektrofotometer :

1. Sumber-sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible pada panjang gelombang antara 350-900 nm.

2. Monokromator

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang digunakan dari hasil penguraian.

3. Kuvet

Pada pengukuran di daerah tampak, kuvet atau kuvet corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan. Kuvet yang tertutup digunakan untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogeny.

4. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

5. Suatu *amplifier* (penguat) dan rangkaian yang membuat isyarat listrik untuk dapat diamati

6. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik (Ganjar dan Rohman, 2007).

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2019 sampai bulan Januari 2020 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta dan Pusat Laboratorium Terpadu UIN, Jakarta.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

1. Bahan Uji (Isolat Uji)

Bahan uji yang digunakan adalah berupa isolat kapang endofit dengan kode PLC2 hasil isolasi dari bagian tangkai daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) penelitian sebelumnya yang dilakukan Kusumaningrum (2018).

2. Bahan

Bahan kimia yang digunakan, diantaranya : etil asetat, metanol, alkohol 70%, lactophenol, aquadest steril, metanol pro analisis, dekstrosa (*Merck*), kloroform, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ 2N, NaOH 10%, Vitamin C dan air panas. Media yang digunakan pada penelitian ini adalah PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan produksi *Merck* sebagai media pertumbuhan dan peremajaan fungi. Sedangkan media untuk fermentasi digunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) yang dibuat dari infusa kentang dengan penambahan dekstrosa.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : Tisu, Kapas, Kasa Saring, *Aluminium Foil*, Ose Jarum, Ose Bulat, Karet Gelang, Botol Kaca, Corong, Pinset, Bunsen, Gunting, Spatula, Sedotan Steril, Tusuk Gigi

Steril, Erlenmeyer (*Pyrex*), Beaker Glass (*Pyrex*), Labu Ukur (*Pyrex*), Cawan Petri, Oven (*Memmert*), *Hot Plante (18-Onc)*, *Magnetic Strirrer*, *Freezer*, Jangka Sorong (*Vinier Califer*), Mikroskop (*Olympus*), *objek glass*, *cover glass*, *Laminar Air Flow*, Kuvet, Neraca Analitik, Autoklaf (*Hirayama*), Gelas ukur, Corong Pisah, Alu dan Mortir, Mikro Pipet.

3.3 Prinsip Penelitian

Isolat kapang endofit kode PLC2 dilakukan peremajaan kultur selama 7 hari diinkubasi pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan koloni setiap hari untuk mengetahui perkembangan pertumbuhan koloni pengamatan secara makroskopis, selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis menggunakan metode *slide culture* dengan media PDA (*Potato Dextrose Agar*), lalu dilakukan proses fermentasi untuk mendapatkan biomassa dan supernatan dari hasil fermentasi kapang endofit menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) selama 21 hari dengan metode statis. Kemudian panen hasil fermentasi untuk diekstraksi dengan memisahkan biomassa dan supernatan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol untuk biomassa dan etil asetat untuk supernatan. Hasil ekstraksi di evaporator untuk mendapatkan fraksi metanol dan etil asetat kemudian fraksi metanol dan fraksi etil asetat di uji skrining senyawa aktif (metabolit sekunder) dan di uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan seperti peralatan seperti ose, spatula logam dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dengan cara membakar ujung peralatan tersebut di atas api bunsen sampai berpijar. Semua alat yang tahan pemanasan seperti cawan petri, tabung reaksi disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 160°C selama 2 jam sedangkan alat atau bahan yang tidak tahan pemanasan di sterilisasi menggunakan Autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Fitri, et al., 2014).

3.4.2 Pembuatan Media Pertumbuhan

1. Pembuatan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Berdasarkan prosedur yang tertera pada kemasan, media PDA dibuat dengan cara PDA sebanyak 39 g dilarutkan dalam 1000 ml aquadest. Media tersebut dicampur hingga merata dengan menggunakan hot plate dan magnetic stirrer. Campur media kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam wadah dan biarkan sampai memadat.

2. Pembuatan Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)

Prosedur pembuatan media Potato Dextrose Broth (PDB), dibuat dari infus kentang sebanyak 200 g/L dan 20 g glukosa. Media dicampur hingga merata. Campuran media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media dituang ke dalam wadah dan biarkan sampai dingin.

3.4.3 Peremajaan Isolat PLC2 Kapang Endofit

Isolat PLC2 diremajakan menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) ambil 1 lempeng dengan diameter 6mm isolat PLC2 dengan menggunakan sedotan steril di inokulasikan ke dalam media cawan petri yang berisi media PDA steril yang sudah padat, dan selanjutnya diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C (Apriliana, 2019).

3.4.4 Karakteristik Isolat PLC2 Kapang Endofit

Pengamatan morfologi kapang secara makroskopik dilakukan dengan pengamatan koloni yakni pada warna permukaan koloni, warna sebalik koloni, pigmentasi miselium jika ada, waktu pertumbuhan diameter koloni, bentuk tepi koloni, tekstur permukaan koloni dan bentuk koloni (Sedyoningrum, 2019). Karakteristik mikroskopis dilakukan menggunakan metode *slide culture*. Tahapan metode pertama disiapkan cawan petri dan diisikan kertas tissue, kaca

objek dan *cover glass* untuk disterilisasi terlebih dahulu menggunakan oven dengan suhu 160°C selama 2 jam. Selanjutnya kertas tissue dibasahi dengan aquades steril sehingga suasana dalam cawan lembab. Kaca objek ditetesi media PDA steril yang masih cair menggunakan pipet steril. Setelah media memadat bagian hifa isolat PLC2 diinokulasi menggunakan jarum ose diatas permukaan media PDA pada kaca objek. Kultur pada kaca objek diinokulasi pada suhu ruang selama 3-7 hari. Setelah itu isolat kapang endofit dibilas dengan alkohol 70% dan ditetesi larutan laktofenol dan ditutup dengan kaca objek steril untuk dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dengan penambahan minyak imersi pada kaca objek. Pengamatan mikroskopik tersebut meliputi sekat hifa (bersekat atau tidak bersekat), pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak bercabang), warna hifa (hialin, berantai atau tidak beraturan).

3.4.5 Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit

Metode fermentasi isolat PLC2 kapang endofit dilakukan dengan menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*). Isolat PLC2 yang sudah diremajakan selama ± 7 hari masing-masing diinokulasikan ke dalam botol kaca berisi 300 ml media cair PDB steril. Sebanyak 9 lempeng isolat PLC2 kapang endofit. Kapang di tumbuhkan dengan suhu ruang selama 21 hari dalam keadaan kondisi statis (Zakiyah *et al.*, 2016).

3.4.6 Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit

Proses ekstraksi hasil fermentasi isolat PLC2 dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda, yaitu pelarut metanol dan pelarut etil asetat. Kultur hasil fermentasi dipisahkan menjadi 2 bagian yaitu biomassa (miselia jamur) dan supernatan (media fermentasi). Untuk bagian biomassa dihaluskan dahulu menggunakan lumpang dan alu, yang telah disterilisasi dengan menggunakan etanol 70% selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol. Penambahan pelarut metanol ditambahkan cukup hingga biomassa terendam dan didiamkan selama ± 24 jam. Selanjutnya rendaman biomassa hasil

maserasi disaring menggunakan kertas saring, dilakukan secara terus menerus hingga memperoleh hasil filtrat yang bening sebagai fraksi pada ekstrak metanol. selanjutnya, fraksi ekstrak metanol dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* yang akan menghasilkan fraksi ekstrak metanol yang kental biomassa.

Untuk bagian supernatan (media fermentasi) diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan (1:1) menggunakan corong pisah. Campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yang memisah. Lapisan yang diambil sebagai fraksi ekstrak etil asetat yaitu pada lapisan atas. Selanjutnya, fraksi ekstrak etil asetat dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* yang akan menghasilkan fraksi ekstrak etil asetat yang kental (Zakiyah *et al.*, 2016).

3.4.7 Skrining Senyawa Metabolit Sekunder

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan bahan aktif yang terdapat pada sampel. Metode yang dilakukan merupakan metode uji berdasarkan Harborne (1987) yang telah dimodifikasi. Uji yang dilakukan antara lain uji flavanoid, senyawa fenolik, dan tanin.

1. Uji Flavanoid

Sampel sebanyak 0,4 g direndam dengan metanol sebanyak 1 ml lalu disaring dengan kapas. Filtrat hasil penyaringan tersebut dibagi ke dalam 2 tabung reaksi dimana masing-masing tabung diberi perlakuan berbeda, yaitu:

- Tabung 1: filtrat ditambahkan dengan H_2SO_4 2N sebanyak 2 tetes lalu dikocok kuat. Hasil positif bila terdapat perubahan warna menjadi kuning merah atau coklat.
- Tabung 2: filtrat ditambahkan dengan NaOH 10% sebanyak 2 tetes lalu dikocok kuat hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning merah, coklat, atau hijau.

2. Uji Senyawa Fenolik

Sampel sebanyak 0,2 g dididihkan dengan 5 ml metanol selama \pm 5 menit, lalu disaring dalam keadaan panas. Setelah itu ditambahkan kloroform dan air suling (1:1) sebanyak 1 ml, lalu dikocok dan biarkan hingga terbentuk lapisan kloroform dan air. Sebagian dari lapisan kloroform tersebut diteteskan pada plat tetes dan ditambahkan pereaksi FeCl_3 1% sebanyak 1-2 tetes. Hasil positif bila terbentuk warna biru keunguan.

3. Uji Tanin

Sampel yang telah halus ditambahkan dengan air lalu dididihkan. Setelah mendidih, sampel disaring. Filtrat diambil sebanyak 2 ml lalu ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 1-2 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman.

3.4.8 Analisis Aktivitas Antioksidan

3.4.8.1 Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Ekstrak etanol dianalisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Prinsipnya didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen, perubahan warna dari ungu kemerahan menjadi kuning digunakan untuk mengetahui aktivitas senyawa antioksidan, selanjutnya larutan uji dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515nm. Ekstrak etanol diuji aktivitas antioksidan dalam bentuk sediaan larutan dengan berbagai parameter yang digunakan diukur untuk uji antioksidan adalah IC_{50} (*inhibition concentration*) dan AAI (*Antioxidant Activity Index*).

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara menimbang 2 mg DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol pro analisis dalam labu 100

ml, lalu kocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,002% (Molyneux, 2004). Larutan DPPH disimpan dalam wadah yang dilapisi dengan kertas aluminium.

2. Pembuatan Larutan Blanko dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan blanko dibuat dengan cara menambahkan 100 ml metanol pro analisis dengan 2 mg larutan DPPH 0,002% ke dalam tabung reaksi, lalu kocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

3.4.8.2 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kapang Endofit

1. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kapang Endofit Biomassa

Larutan induk ekstrak kapang endofit biomassa dibuat terlebih dahulu dengan menimbang 8 mg ekstrak dan kemudian dilarutkan dengan metanol pro analisis. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml. Volume dicukupkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas (400 ppm). Kemudian dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm.

2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kapang Endofit Supernatan

Larutan induk ekstrak kapang endofit supernatan dibuat terlebih dahulu dengan menimbang 2 mg ekstrak dan kemudian dilarutkan dengan metanol pro analisis. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml. Volume dicukupkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas (100 ppm). Kemudian dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 6,25ppm, 12,5ppm, 25ppm, 50ppm, dan 100ppm.

2. Pengukuran Serapan Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Masing-masing variasi konsentrasi larutan uji diambil sebanyak 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1,5 ml 0,002%, dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

3.4.8.3 Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

1. Pembuatan Larutan Vitamin C

Ditimbang serbuk Vitamin C sebanyak 2 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml, lalu dilarutkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan induk 100 ppm. Dibuat deret konsentrasi 0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm ; 2 ppm dan 4 ppm

2. Pengukuran Serapan Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing variasi konsentrasi larutan uji diambil sebanyak 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan larutan DPPH 0,002% sebanyak 1,5 ml, dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

3.4.8.4 Analisis Data

1. Penentuan Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Pengujian aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH (Hasanah *et al*, 2017), dengan menggunakan rumus (Najihudin *et al*, 2017) :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban blanko = nilai absorbansi DPPH

Absorban sampel = nilai absorbansi sampel

Aktivitas antioksidan berdasarkan % inhibisi tertera pada Tabel 3.1

Tabel 3. 1 Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan % Inhibisi

% Inhibisi	Aktivitas Antioksidan
50 % - 90 %	Tinggi
20 % - 50 %	Sedang
0 %	Tidak ada aktivitas Antioksidan

Sumber: (Mulyani *et al*, 2018)

Dari % inhibisi yang diperoleh dapat ditentukan IC₅₀, yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji. IC₅₀ diperoleh dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linier korelasi

Inhibisi dan konsentrasi menggunakan rumus (Hidayah *et al*, 2014) :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = % inhibisi DPPH

x = konsentrasi sampel dalam satuan $\mu\text{g/ml}$ atau ppm

2. Penentuan Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*)

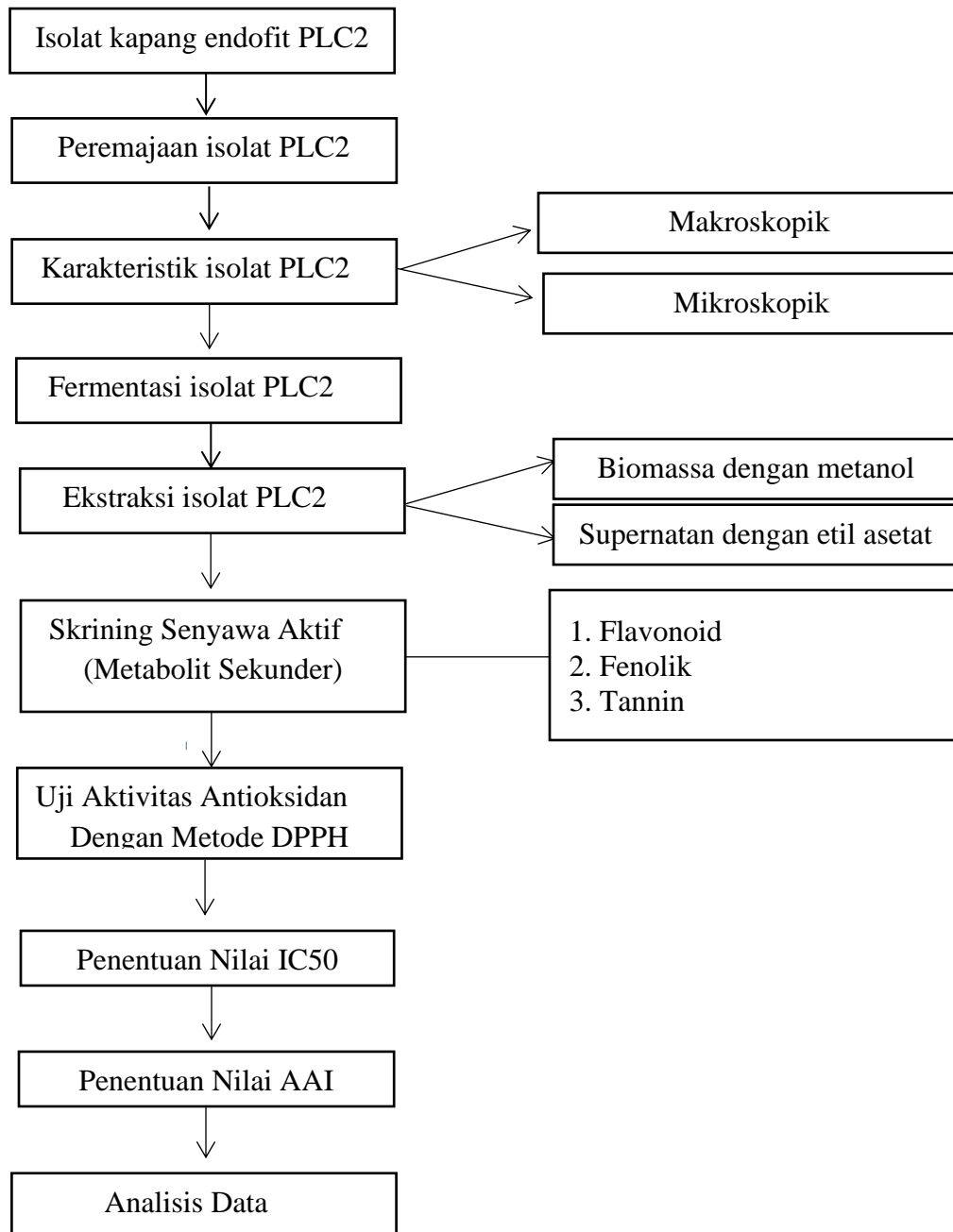
Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) diperoleh dari konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji ($\mu\text{g/ml}$) atau (ppm) dibagi dengan nilai IC_{50} yang diperoleh ($\mu\text{g/ml}$) atau (ppm). Nilai AAI $< 0,5$ adalah antioksidan lemah, AAI $> 0,5 - 1$ adalah antioksidan sedang, AAI $> 1- 2$ adalah antioksidan kuat dan AAI > 2 adalah antioksidan sangat kuat (Sari dan Putra, 2018). Perhitungan AAI menggunakan rumus :

$$\text{AAI} = \frac{\text{Konsentrasi larutan DPPH}}{\text{IC}_{50}}$$

Keterangan :

- Konsentrasi larutan DPPH ($\mu\text{g/ml}$) atau (ppm)
- IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) atau (ppm)

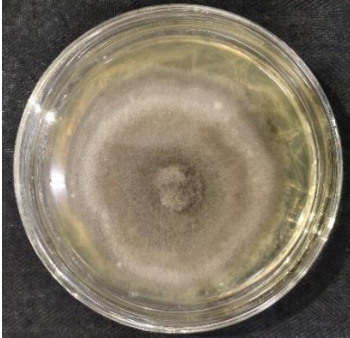
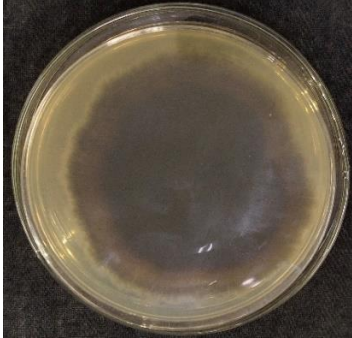
3.5 Tahap Alur Penelitian



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Karakterisasi Isolat PLC 2 Kapang Endofit

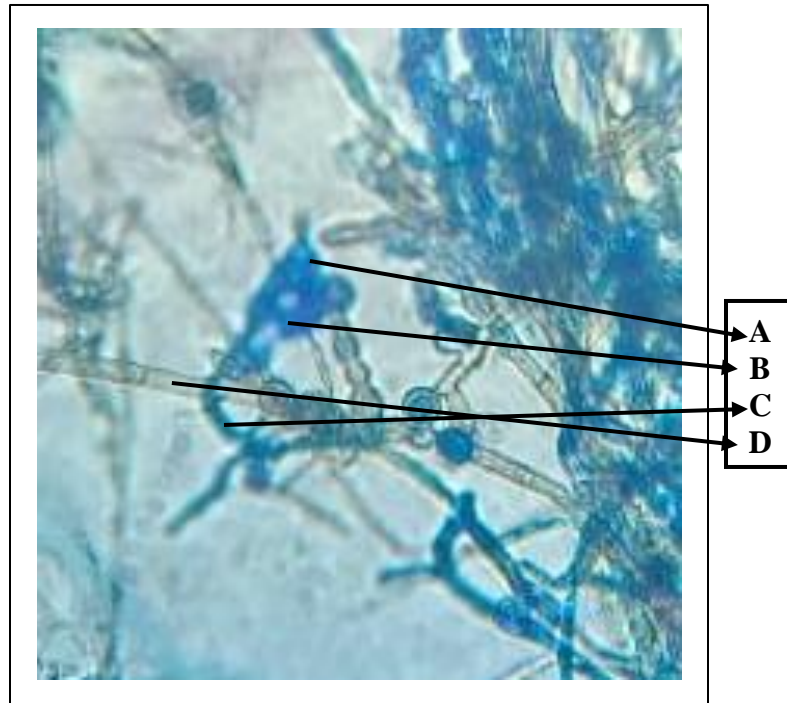
Karakterisasi kapang endofit isolat PLC2 Tangkai Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dilakukan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopis dengan cara melihat hifa (berseptum atau tidak), bentuk konidia dan ukuran spora. Pengamatan morfologi koloni dapat dilihat dari warna permukaan koloni, selain itu dilihat ada tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni kearah tepi koloni dan juga ada tidaknya lingkaran-lingkaran konsentris (Shofiana *et al.*, 2015). Berikut pengamatan makroskopis kapang endofit PLC2 seperti dibawah ini :

<i>Tampak Atas</i>	<i>Tampak Bawah</i>
	
<p>Ciri-ciri:</p> <ul style="list-style-type: none">(a) Tampak bagian atas hijau keabu-abuan dan tumbuh koloni di bagian pinggir berwarna putih, koloni berbentuk bulat.(b) Permukaan koloni halus, tampak lingkaran konsentris.(c) Tampak dari belakang berwarna hitam dengan bagian tepi berwarna kecoklatan.	

Gambar 4. 1 Pengamatan Makroskopis Isolat PLC2 Kapang Endofit

Hasil karakteristik di atas Kapang Endofit isolat PLC2 diduga termasuk dalam genus *Penicillium*, karna memiliki koloni berwarna hijau keabu-abuan dengan pinggir yang berwarna putih, koloni berbentuk bulat, tekstur permukaan koloni padat, tepi

koloni meruncing (Suliati *et al*, 2017). Selanjutnya untuk mengetahui morfologi miselium dan bagian lain dari isolat PLC2 dilakukan pengamatan secara mikroskopis. Berikut hasil pengamatan mikroskopis isolate PLC2 kapang endofit :



Gambar 4. 2 Pengamatan Mikroskopis Isolat PLC2 Kapang Endofit

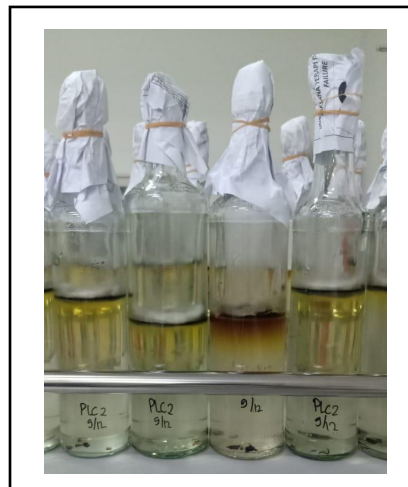
Keterangan :

- (A) Konidia
- (B) Fialid
- (C) Konidiofor
- (D) Hifa Berseptat

Hasil pengamatan karakterisasi secara mikroskopis isolat PLC 2 kapang endofit Tangkai Daun Kayu Jawa dengan perbesaran 400x menunjukkan bahwa kapang endofit isolat PLC2 memiliki konidia (A), fialid (B) konidiofor (C) dan hifa berseptat (D) dari hal tersebut diduga bahwa kapang endofit isolat PLC2 termasuk dalam genus *Penicillium*. Sesuai dengan deskripsi kapang *Penicillium* pada monograf *Introduction to Food and Airborne-Fungi* (Samson *et al*, 2004) fialid berbentuk botol, konidia bersel tunggal, berbentuk bulat, dan konidia duduk langsung pada fialid.

4.2 Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit

Fermentasi dilakukan untuk mendapatkan hasil metabolit sekunder yang dihasilkan dari kapang endofit. Fermentasi dilakukan secara aseptis guna menghindari kontaminan. Pada proses fermentasi kapang endofit dibuat fermentasi berjumlah 14 botol kaca yang berisi 300 ml PDB ditiap botolnya. Media PDB yang digunakan pada tahap fermentasi mengandung sumber karbon yang berasal dari kentang dan *dextrose*. Sumber karbon merupakan komponen terpenting dalam media pertumbuhan, karena sel-sel mikroba sebagian besar terdiri dari unsur-unsur karbon dan nitrogen (Ukhty, 2015). Hasil dari fermentasi isolat PLC2 kapang endofit dapat dilihat pada Gambar 4.3



Gambar 4. 3 Hasil Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit

Isolat ditumbuhkan pada media PDB, akan terbentuk miselia dan warna cairan PDB mulai berubah. Hal ini diduga akibat adanya asosiasi antara biosintesis metabolit sekunder dan proses sporulasi pada fungi endofit. Umumnya proses biosintesis metabolit sekunder pada fungi endofit berkaitan dengan proses sporulasi. Metabolit sekunder diproduksi untuk mengaktifkan proses sporulasi atau disekresikan sepanjang proses sporulasi berlangsung (Agusta 2009). Proses sporulasi ini dipengaruhi beberapa faktor seperti kondisi lingkungan yang mendukung terjadinya proses sporulasi dan juga menjadi faktor penentu terbentuknya metabolit sekunder. Faktor-faktor lainnya seperti perbedaan sumber karbon dan nitrogen, pH, suhu, dan konsentrasi garam (Anggraini 2012). Pada hasil yang diperoleh terdapat 2 bagian yakni, bagian atas terdapat biomassa

yang tumbuh dibagian atas dan bagian bawah terdapat media cair PDB yang jernih disebut supernatan. Pada biomassa terlihat pertumbuhan kapang endofit berwarna sedikit putih terdapat koloni berwarna abu-abu ke hitam, serta terdapat butiran seperti granul yang diduga sebagai senyawa aktif yang terdapat pada kapang endofit tersebut. Mengutip pada penelitian sebelumnya Sedyoningrum (2019) berdasarkan beberapa fase yang diperoleh hari ke 0 - hari ke 7 yaitu dimana fase adaptasi, hari ke-11 merupakan fase eksponensial, selanjutnya hari ke 21 mengalami fase stationer disinilah dilakukan pemanenan fermentasi kapang endofit, pada hari ke 24 sudah mulai memasuki fase kematian. Hasil fermentasi yang di dapat pada proses pemanenan ini adalah bobot biomassa sebanyak 87,62 g dan bobot supernatan sebanyak 4,2 Liter.

4.3 Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat PLC 2 Kapang Endofit

Hasil proses fermentasi kemudian diekstraksikan, ekstraksi dilakukan untuk menarik atau memisahkan kandungan senyawa metabolit sekunder dari hasil fermentasi yang terdapat dalam isolat PLC2 kapang endofit. Metode yang dipakai yaitu maserasi untuk Biomassa dan partisi untuk Supernatan. Pada proses ekstraksi terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya : jenis pelarut dan konsentrasi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pada biomassa dihaluskan dahulu dengan menggunakan lumpang dan alu dengan tujuan untuk memecahkan struktur sel kapang sehingga memudahkan senyawa aktif dapat terekstraksi oleh pelarut dengan sempurna, kemudian biomassa dimaserasi selama 24 jam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan metode perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukkan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Zulharmita *et al*, 2012). Metode maserasi merupakan cara ekstraksi dingin yang memiliki keuntungan yaitu menggunakan peralatan atau botol maserasi sederhana, pelaksanaannya mudah tanpa perlakuan khusus yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut pengektaksi sambil sesekali diaduk (Verawati *et al*, 2017). Hasil yang didapatkan pada ekstraksi biomassa ini antara lain berupa filtrat bening dengan bobot 1,7 Liter setelah dilarutkan dengan pelarut. Pada supernatan hasil fermentasi di larutkan dengan pelarut etil asetat dan

didapatkan hasil 22 Liter filtrat bening kemudian ekstrak di dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* menghasilkan bobot ekstrak. Berikut tabel bobot hasil ekstraksi biomassa dan supernatan :

Tabel 4. 1 Hasil Ekstrak Isolat PLC2 Kapang Endofit

Ekstrak Kapang Endofit	Bobot hasil ekstraksi (g)
Biomassa	2,3
Supernatan	1,9

Bobot hasil ekstrak kapang endofit PLC2 didapat jumlah yang berbeda. Bobot ekstrak dengan menggunakan pelarut metanol lebih besar dibanding dengan bobot ekstrak yang menggunakan pelarut etil asetat. Hal ini dikarenakan pelarut metanol yang bersifat polar lebih banyak mengekstrak senyawa aktif pada biomassa dari pada pelarut etil asetat yang bersifat semipolar. Metanol merupakan pelarut polar yang sering digunakan karena penetrasi ke dalam dinding sel lebih efisien sehingga menghasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak. Hal ini menyebabkan maserasi dengan pelarut metanol akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan metabolit sekunder lebih banyak dan beragam (Bariyyah *et al.*, 2013). Penggunaan pelarut etil asetat bertujuan agar dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun semipolar (Septiana *et al.*, 2017). Pelarut etil asetat digunakan karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak bersifat higroskopis dan memiliki toksisitas yang rendah (Putri *et al.*, 2013). Ekstrak fraksi Biomassa dan Supernatan disimpan menggunakan wadah vial ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin untuk menjaga kestabilan ekstrak. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 20.

4.4 Skrining Senyawa Metabolit Sekunder

Skrining atau penapisan fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif atau senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan (Rohmah *et al.*, 2019), dalam hal ini adalah ekstrak kapang endofit PLC2 Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr).

Tabel 4. 2 Hasil Skrining Isolat PLC2 Kapang Endofit

Pengujian Senyawa	Hasil	
	Supernatan	Biomassa
Flavonoid Tabung 1 (Pereaksi H ₂ SO ₄)	+	+
Flavonoid Tabung 2 (Pereaksi NaOH)	+	+
Fenolik	-	-
Tanin	+	+

Keterangan :

(+) Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Dari hasil tabel skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak kapang endofit Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr) isolat PLC2 biomassa dan supernatan mengandung golongan senyawa yaitu flavonoid dan tannin. Identifikasi flavonoid terhadap ekstrak kapang endofit PLC2 biomassa dan supernatan menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan terbentuknya larutan warna coklat atau kuning merah. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam kapang endofit pada tangkai kayu jawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai terjadi (Handayani *et al*, 2014). Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap ROS secara langsung, mencegah regenerasi ROS, dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seluler. Hasil penapisan atau skrining fitokimia flavonoid terhadap ekstrak kapang endofit PLC2 biomassa dan supernatan bisa dilihat di Lampiran 9.

Identifikasi senyawa tannin terhadap ekstrak kapang endofit PLC2 biomassa dan supernatan menunjukkan hasil yang positif yang ditandai dengan terbentuknya larutan hijau kehitaman. Perubahan warna disebabkan oleh terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara ion besi (III) dengan gugus OH fenolik. Senyawa ini mudah mengalami oksidasi dengan cara mendonorkan atom hidrogen dalam gugus OH fenolik kepada suatu radikal bebas. Semakin banyak gugus OH dalam senyawa fenolik, semakin aktivitas antioksidannya meningkat (Risky dan Suyatno, 2014). Hasil penapisan atau skrining fitokimia senyawa tannin terhadap ekstrak kapang endofit PLC2 biomassa dan supernatan dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Dengan Metode DPPH

Pemilihan pengujian dengan metode DPPH dilakukan karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Molyneux, 2004). Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Pemilihan pengujian dengan metode DPPH dilakukan karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Molyneux, 2004). Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH.

Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm dengan 1 kali pengulangan. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 15. Perubahan warna ini mengakibatkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*) (Molyneux, 2004). Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak supernatan didapat

nilai IC_{50} yaitu sebesar 59,73 ppm sedangkan pada ekstrak biomassa didapat nilai IC_{50} yaitu sebesar 222,16 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik (Purwaningsih, 2012). Berdasarkan perbedaan nilai IC_{50} yang diperoleh ekstrak supernatan dan ekstrak biomassa, kemungkinan dikarenakan faktor perlakuan ketika pengekstrakkan dan pelarut yang dipakai berbeda sehingga senyawa antioksidan yang ditarik oleh pelarut tidak maksimal didapat dan mendapatkan jumlah yang berbeda.

Tabel 4. 3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kapang Endofit PLC2 dan Vitamin C

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC_{50} (ppm)
Supernatan	6,25	0,2356	4,69	59,73
	12,50	0,2197	11,12	
	25	0,1927	22,02	
	50	0,1406	43,10	
	100	0,0430	82,58	
Biomassa	25	0,2273	9,35	225,77
	50	0,2034	18,88	
	100	0,1704	32,03	
	200	0,1186	52,71	
	400	0,0520	79,26	
Vitamin.C	0,25	0,2324	5,78	2.01
	0,50	0,2141	13,31	
	1	0,1735	30,05	
	2	0,0993	60,58	
	4	0,0148	95,38	

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan besarnya konsentrasi larutan uji berbanding lurus dengan nilai persen inhibisi, dimana semakin besar konsentrasi larutan uji, maka semakin besar nilai persen inhibisi yang diperoleh sedangkan semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin kecil nilai absorbansi yang diperoleh, artinya semakin banyak radikal bebas DPPH yang diikat oleh senyawa antioksidan. Tabel ini juga menunjukkan terlihat adanya perbedaan nilai yang signifikan antara nilai IC_{50} vitamin C dengan ekstrak kapang endofit, hal ini dikarenakan ekstrak kapang endofit yang diuji merupakan bahan alam yang diekstrak

menggunakan pelarut organik memungkinkan adanya senyawa lain yang tidak diinginkan ikut tertarik kedalam ekstrak kapang endofit. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami dalam bentuk murni sehingga aktivitas antioksidannya sangat kuat dalam meredam radikal bebas DPPH dengan % inhibisi hampir mencapai 100 %. Vitamin C termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkal berbagai radikal bebas ekstraseluler. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Masrifah, *et al* 2017). Selain nilai IC_{50} aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari nilai AAI (*Antioksidant Activity Index*) yang diperoleh. Nilai AAI ekstrak kapang endofit biomassa 0,334 dan supernatan 0,088, termasuk mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah, sedangkan nilai AAI vitamin C sebesar 9,95 termasuk mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Semakin tinggi nilai AAI yang diperoleh, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 17.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
2. Isolat PLC2 kapang endofit tangkai daun tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) ekstrak supernatan memiliki nilai IC_{50} 59,73 ppm, sedangkan pada ekstrak biomassa memiliki nilai IC_{50} 225,77 ppm. Nilai AAI dari ekstrak biomassa sebesar 0,088 dan pada ekstrak supernatan sebesar 0,334.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa murni kapang endofit.
2. Perlu dilakukan optimasi media.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*, Penerbit ITB, Bandung.
- Anggraini, F. D. 2012. Isolasi dan Uji Antimikroba Metabolit Sekunder Ekstrak Kultur Jamur Endofit AFKR-5 dari Tumbuhan Akar Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Anggrayni, L. 2019. Produksi Senyawa Antioksidan dari Isolat Kapang Endofit kode CLC1 asal Batang Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) dengan Metode Uji DPPH. *Skripsi*. Jakarta. Institut Sains dan Teknologi Nasional
- Apriliana, Z. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat PLC1A Kapang Endofit dari Tangkai Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Jakarta: Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Alam, B., Hossain, S., Habib, R., Rea, J., & Islam, A. 2012. Antioxidant and Analgesic Activities of *Lannea coromandelica* Linn. Bark Extract. *International Journal of Pharmacology* 8 (4): 224–233).
- Bahriul, Putrawan, Rahman, Nurdin, Wahid, Anang. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan metode DPPH. *Jurnal Akad. Kim.* 3 (3),2302-6030. 144-149.
- Bariyyah, S. K., Hanapi, A., Fasya, A. G., & Abidin, M. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak Tauge. *Alchemy*, 2(3), 195–204.
- Dachriyanus. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri. Padang Andalas University.1.
- Depertemen Kesehatan Republik Indonesia 2000. Farmakope Indonesia. Edisi V. Jakarta :Depkes RI.
- Duppala,L.,Hema N.D.D.,K.V.Ramana M. 2017. Physico-chemical and microbial studies of lannea GUM. International research *Journal of Pharmacy*. 8 (4) : 50-58.

- Ergina. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksikan dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademi Kimia*. Universitas Tadulako. Palu. Indonesia. 3 (3).
- Fitri, A., Agus, W., Karina., Nur, H., Deby, EL., Alif, N., Ibrahim, J. 2014. Peralatan, Sterilisasi dan Media Pertumbuhan Mikroba *Jurnal Praktikum Mikrobiologi Dasar*
- Gandjar, I.G., dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis* Cetakan II. Yogyakarta; Pustaka Pelajar, 246.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Oleh Padmawinata K, Soedira I. 1996. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1 (2), 86–93.
- Hasanah, M., Maharani, B., dan Munarsih, E. 2017. Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *IJPST*, 4 (2), 42-49.
- Hasyyati, N., Sabrina, Supriyadi, A., Raharjo, B., & Dwiatmi, K. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Kapang Endofit dari Pegagan (*Centella asiatica* (L.) URBAN). *Jurnal Biologi*, 6 (2), 66-74.
- Hidayah, N., Purwanto, D. A., dan Isnaeni. 2014. Penapisan Aktivitas Antioksidan Kombinasi Yogurt dan Jus Tomat Dibandingkan Vitamin C. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 3 (1), 41-48
- Hidayat, F., Rahutomo, S., Farrasati, R., Pradiko, I., Syarovy, M., Sutarta, E. S., dan Widayati, W. E. 2018. Pemanfaatan Bakteri Endofit untuk Meningkatkan Keragaan Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 26 (2), 71–78.
- Ismail, I., Paturusi, A. A. E., & Iham, A. 2016. Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Kortex Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.). *Biogenesis: Jurnal*

- Ilmiah Biologi*, 4(1), 122–130.
- Ivanišová, E., Tokár, M., Mocko1, K., Bojňanská1, T., Mareček1, J., & Mendelová1, A. 2013. Antioxidant activity of selected plant extract. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 15(1), 1692–1703.
- Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Nurhasanah, Sari, R. P., & Wafdan, R. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker, 9(1), 161–184.
- Kusumaningrum. 2018. Isolasi Seleksi Kapang Endofit dari Tangkai Daun Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Hout.) Merr.) Sebagai Antibakteri. Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Lubis, T. D. S. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kapang Endofit Akar Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Hout.) Merr.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-1-Pikrihidrazil). *Skripsi*. Jakarta. Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Manik, M. K., Wahid, M. A., Islam, S. M. A., Pal, A., & Ahmed, K. T. 2013. A comparative study of the antioxidant, antimicrobial and thrombolytic activity of the bark and leaves of *Lannea coromandelica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 2609–2614.
- Masaki, H. 2010. Role of Antioxidants in the Skin : Anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, 58, 85-90.
- Masrifah, Rahman, N., & Abram, P. H. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *J. Akad. Kim*, 6 (2), 98–106.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Dyhenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journals science and technology*: 26:211-219.
- Mulyani, T., Ariyani, H., Rahimah, dan Rahmi, S. 2018. Formulasi dan Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L.). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2 (1), 111-117.
- Murthy, Nitya K, Pusphalatha, and Chandrahekhass. 2011. Antioxidant Activity And

- Phytochemical Analysis Of Endophytic Fungiisolated From *Lobelia nicotianifolia*. *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(5):218-225.
- Najihudin, A., Chaerunisaa, A., dan Subarnas, A. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L.) Dengan Metode DPPH. *IJPST*, 4 (2), 70-78.
- Pakaya, D. 2014. Peranan Vitamin C pada Kulit. *Media Tadulako, Jurnal Kedokteran*, 1 (2): 45-54.
- Panjaitan, T. D., Prasetyo, B., & Limantara, L. 2014. Peranan Karotenoid Alami Dalam Menangkal Radikal Bebas Di Dalam Tubuh, 79–86.
- Pratiwi,S, T. 2018. *Mikrobiologi farmasi*. Erlangga. Jakarta. Hal 188 -191.
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*). *Ilmu Kelautan*, 17(1), 39–48.
- Puspita Sari W. 2008. *Uji Toksisitas Isolat hasil Fermentasi Kapang dari Tanaman (Garcinia tetranda pierre) dan Garcinia Mangostana Linn dengan Metode BLST*. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L .). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. II (3) : 113-126.
- Risky, T. A., dan Suyatno. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum philippensis* L. *UNESA Journal of Chemistry*, 3 (1), 89-95.
- Rizkayanti, Diah, A. W. M., & Jura, M. R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kim*, 6 (2), 125–131.
- Rohmah, J., Rini, C. S., dan Wulandari, F. E. 2019. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa* var. Crispa) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Riset*, 4 (1), 18-32.

- Rosahdi, T. D., Kusmiyati, M., & Wijayanti, F. R. 2013. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH, 7 (1).
- Sari, A. N. 2015. Antioksidan alternatif untuk menangkal bahaya radikal bebas pada kulit. *Journal of Islamic Science and Technology*, 1 (1), 63–68.
- Sari, N. Y., dan Putra, I. W. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Akasia (*Acacia auriculiformis*). *Jurnal Media Sains*, 2 (1), 21-25.
- Sayuti, K. R., & Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press. 15.
- Sedyoningrum, E. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat PLC2 Kapang Endofit dari Tangkai Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, & J.C. Frisvad. 2004. *Introduction to food and airborne fungi*. 7th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht: 389 hlm.
- Septiana, E., Bustanussalam, B., Rachman, F., & Hapsari, Y. 2017. Potensi Ekstrak Kapang Endofit Asal Rimpang Kunyit sebagai Antimalaria dan Antioksidan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol 7.
- Shofiana, R. H., Sulistyowati, L & Muhibuddin, A. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) serta Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*). *Jurnal HPT* Vol 3 No 1.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: CV. Anugerah Utama Raharja.
- Suhartono, E.(2016). *Toksistas Oksigen Reaktif dan Antioksidan di Bidang Kedokteran dan Kesehatan*. Yogyakarta.
- Suliaty., Rahmawati & Mukarlina. 2017. Jenis-jenis Jamur Endofit Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) di Perkebunan Dungun Prapakan Sambas. *Jurnal Protobiont* Vol.6 (3): 173-181

- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"* (pp. 1–7).
- Ukhty, N. 2015. Kapang Endofit Laut dari Tumbuhan Pesisir Terong Pungo (*Solanum* sp.) dan Potensinya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Perikanan Tropis*, 2.
- Verawati, Nofiandi, D., dan Petmawati. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator*, 2 (2), 53-60.
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P., & Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 16(3), 156 – 160.
- Widowati, T., Bustanussalam, B., Sukiman, H., & Simanjuntak, P. 2016. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Sebagai Penghasil Antioksidan. *Biopropal Industri*, 7(1), 9–16.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 20.
- Wulandari, S.L. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Kapang Endofit Asal Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Skripsi*.
- Zakiah, A., Radiastuti, N., & Sumarlin, L. O. 2016. Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd.). *AL Kaunyah: Jurnal Biologi*, 8(2), 51–58.
- Zulharmita, Kaspiyah, U., dan Rivai, H. 2012. Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 4 (2), 147-157.

Lampiran 1. Permohonan Izin Penelitian Lab



**YAYASAN PERGURUAN CIKINI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL**

Jl. Mh. Khat. II, Buaru, Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12040 Telp: (021) 727 0090, 707 4645, 707 4647
Fax: (021) 706 8055, <http://www.istn.ac.id> E-mail: rektorat@istn.ac.id

Nomor : 367 /03.1-Hsf/X/2019.

Lamp. : -

Perihal : **Permohonan Izin Penelitian Lab.**

Kepada Yth :

Kepala Lab. Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi

Institut Sains dan Teknologi Nasional

Di - Tempat.

Dengan hormat,

Dalam rangka pelaksanaan Tugas Akhir / Skripsi mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi - Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), bersama ini kami mengajukan permohonan izin penelitian atas nama :

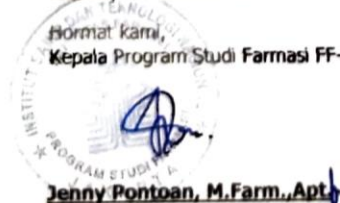
Nama	: Monalisa
Nomor Pokok	: 15330016
Bidang	: Farmasi Sains dan Industri

Dengan judul " **Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endofit Dengan Menggunakan Metode DPPH** " Sehubungan dengan hal tersebut, kami mengharapkan bantuan Bapak/Ibu agar dapat memberikan izin untuk melaksanakan izin penelitian pada Laboratorium **Mikrobiologi** yang Bapak/Ibu pimpin.

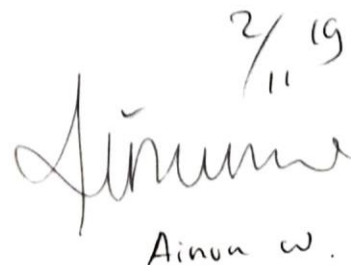
Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan bantuannya diucapkan terima kasih.

Jakarta, 28 Oktober 2019

Hormat kami,
Kepala Program Studi Farmasi FF-ISTN


Jenny Pontoon, M.Farm., Apt.

Terbusan :
1. Arsip

2/19
11

Ainun w.



**YAYASAN PERGURUAN CIKINI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL**

Jl. Moh. Rofiq II, Bumi Srengeng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp: (021) 727 0090, 792 4645, 792 4647
Fak: (021) 786 6955, http://www.istn.ac.id E-mail: rektorat@istn.ac.id

Nomor : 347 /03.1-Hsf/X/2019.

Lamp. : -

Perihal : **Permohonan Izin Penelitian Lab.**

Kepada Yth :

Kepala Lab. Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi

Institut Sains dan Teknologi Nasional

Di - Tempat.

Dengan hormat,

Dalam rangka pelaksanaan Tugas Akhir / Skripsi mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi - Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), bersama ini kami mengajukan permohonan izin penelitian atas nama :


Nama	: Monalisa
Nomor Pokok	: 15330016
Bidang	: Farmasi Sains dan Industri

Dengan judul "**Uji Aktivitas Antioksidan Isolat PLC2 Kapang Endoffit Dengan Menggunakan Metode DPPH**" Sehubungan dengan hal tersebut, kami mengharapkan bantuan Bapak/Ibu agar dapat memberikan izin untuk melaksanakan izin penelitian pada Laboratorium **Fitokimia** yang Bapak/Ibu pimpin.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan bantuannya diucapkan terima kasih.

Jakarta, 28 Oktober 2019

Hormat kami,
Kepala Program Studi Farmasi FF-ISTN



Jenny Pontoan, M.Farm., Apt.

Kelab Kimia Farmasi


Dr. Herdini, M.Si., Apt.

Tembusan :

1. Arsip

Lampiran 2. Sertifikat Analisis Bahan



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Name of Product : Methanol Technical (Commercial)	Batch No. : J15J098
Product Code : 90604 - 200 L	Specification No. : AFC-1604-R
Manufacturing Month : September, 2015	CAS No. : 67-56-1
Expiry Month : August, 2020	Batch size : 2000 L

TESTS	RESULTS	PRESCRIBED
DESCRIPTION	Complies	A clear, colourless liquid with a characteristic odour.
MISCIBILITY	Complies	Miscible with water, ethanol, ether, benzene, ketones and other organic solvents.
GUARANTEE ANALYSIS		
ASSAY (GC)	99.95%	NLT 99.0%
WEIGHT PER ML AT 20°C	0.7910 g	0.791 - 0.793 g
REFRACTIVE INDEX AT 20°C	1.3290	1.328 - 1.331
DISTILLATION RANGE	64.0 - 65.0°C	64.0 - 65.0°C
MAXIMUM LIMITS OF IMPURITIES		
NON - VOLATILE MATTER	0.0023%	0.01%
WATER (by KF)	0.062%	0.3%



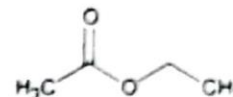
Office : D/o Nitraj Service Centre, P.B. Road, Post, Umbraj, Tal. Karad, Dist. Satara Pin: 415109
 Factory : 120/A, Waryachiwadi, Post. Masur, Tal. Karad, Dist. Satara Pin: 415106
 Maharashtra, INDIA
 Phone No. : 02164 264377 264077 Fax No. : 02164 - 265100
 mail : satyam@satyampetro.com Website : www.satyampetro.com

SATYAM
 Petrochemicals

Certificate of Analysis

Product: Ethyl Acetate

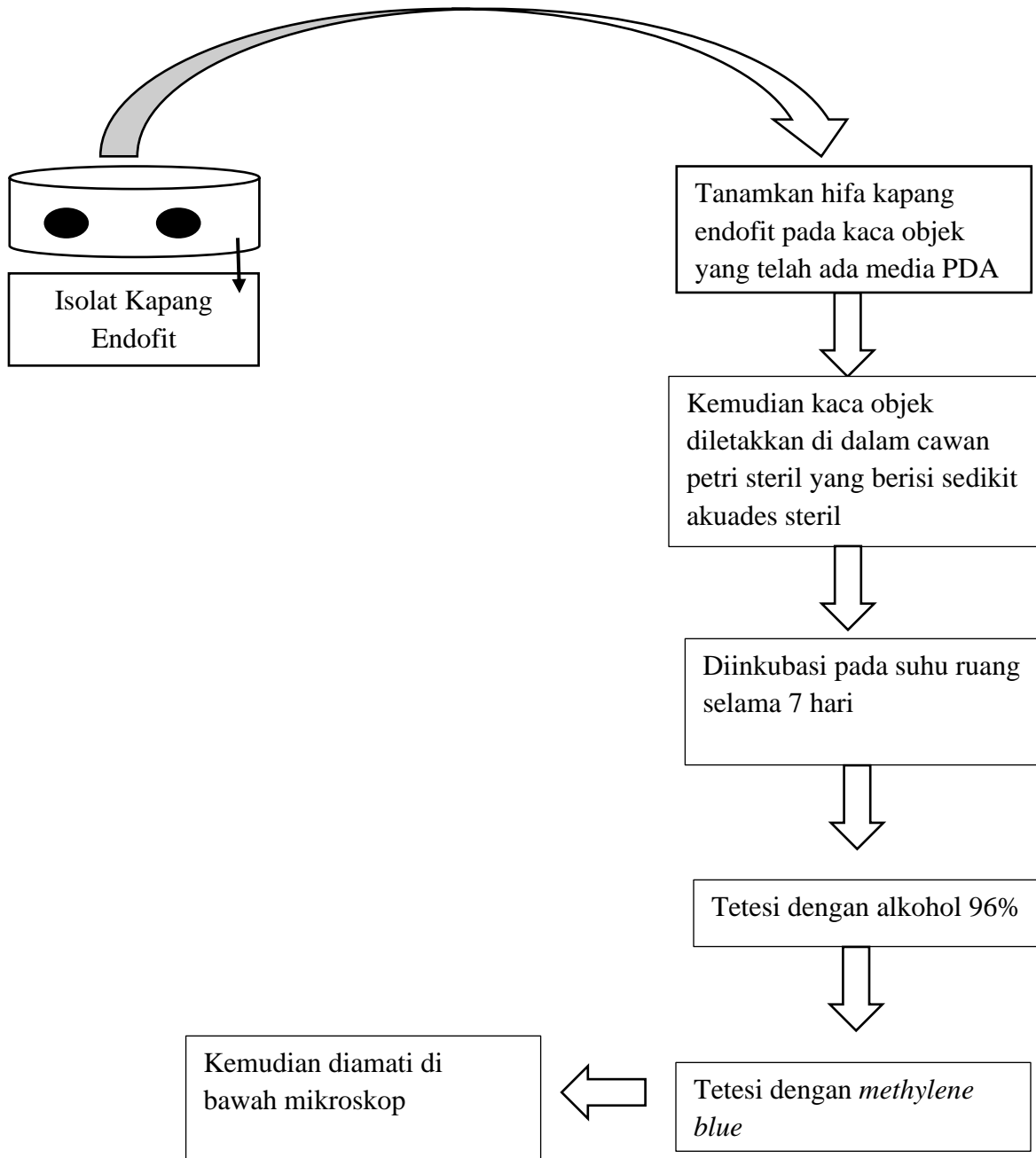
Molecular Formula: C₄H₈O₂



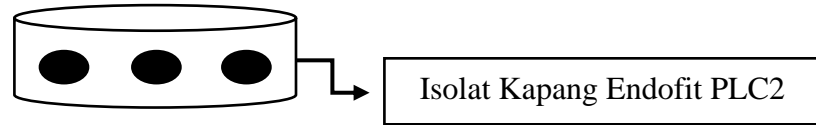
Sr. No.	Parameter	UOM	Specification	Result
1	Colour	APHA	10 (Max)	10 Below
2	Appearance	-	Clear, Colourless Liquid	Clear, Colourless Liquid
3	Water Content	%	0.05 (max)	0.02
4	Acidity as Acetic Acid	%	0.01 (max)	0.0027
5	Alcohol Content	%	0.05 (max)	0.02
6	Density at 27 Degree C	%	0.895 - 0.898	0.896
7	Ester content as Ethyl Acetate by GC	%	99.80 (min)	99.90
8	Residue on evaporation	%	0.01 (max)	0.005
9	Distillation range at 760mm of Hg			
	i) Initial Boiling Point	°C	76.0 (min)	75.70
	ii) Dry Point	°C	78.5 (max)	78.00

Form: Liquid

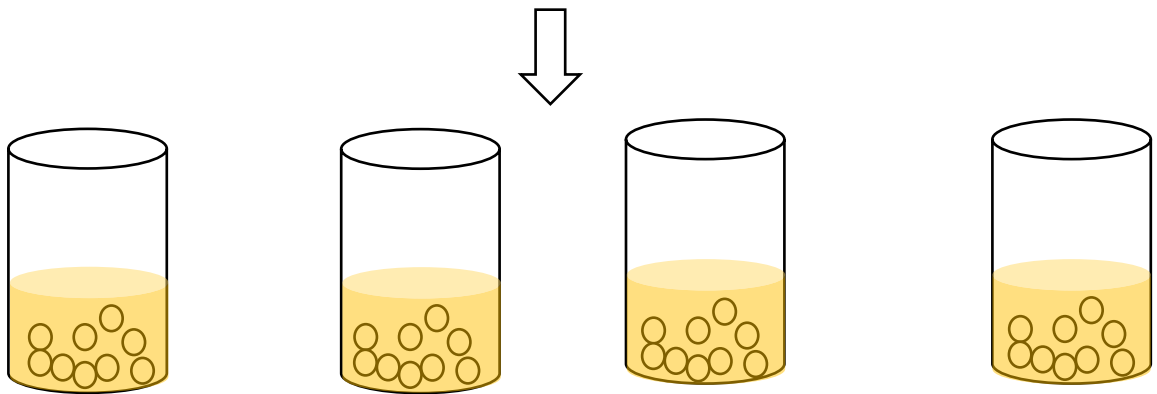
LUXCHEM
 DISTRIBUTOR KIMIA

Lampiran 3. Skema Tahapan Karakteristik Kapang Endofit PLC2

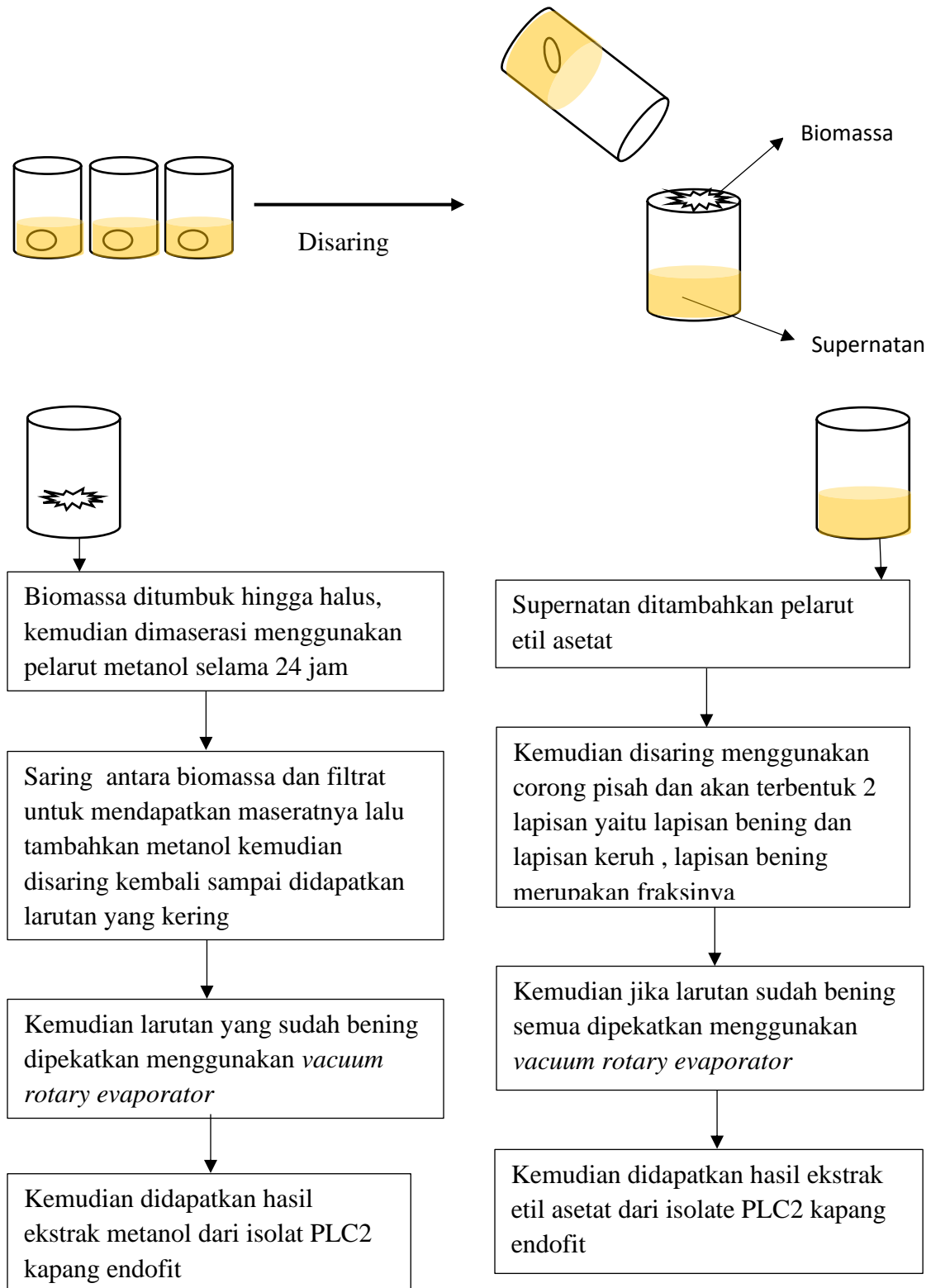
Lampiran 4. Skema Tahapan Fermentasi



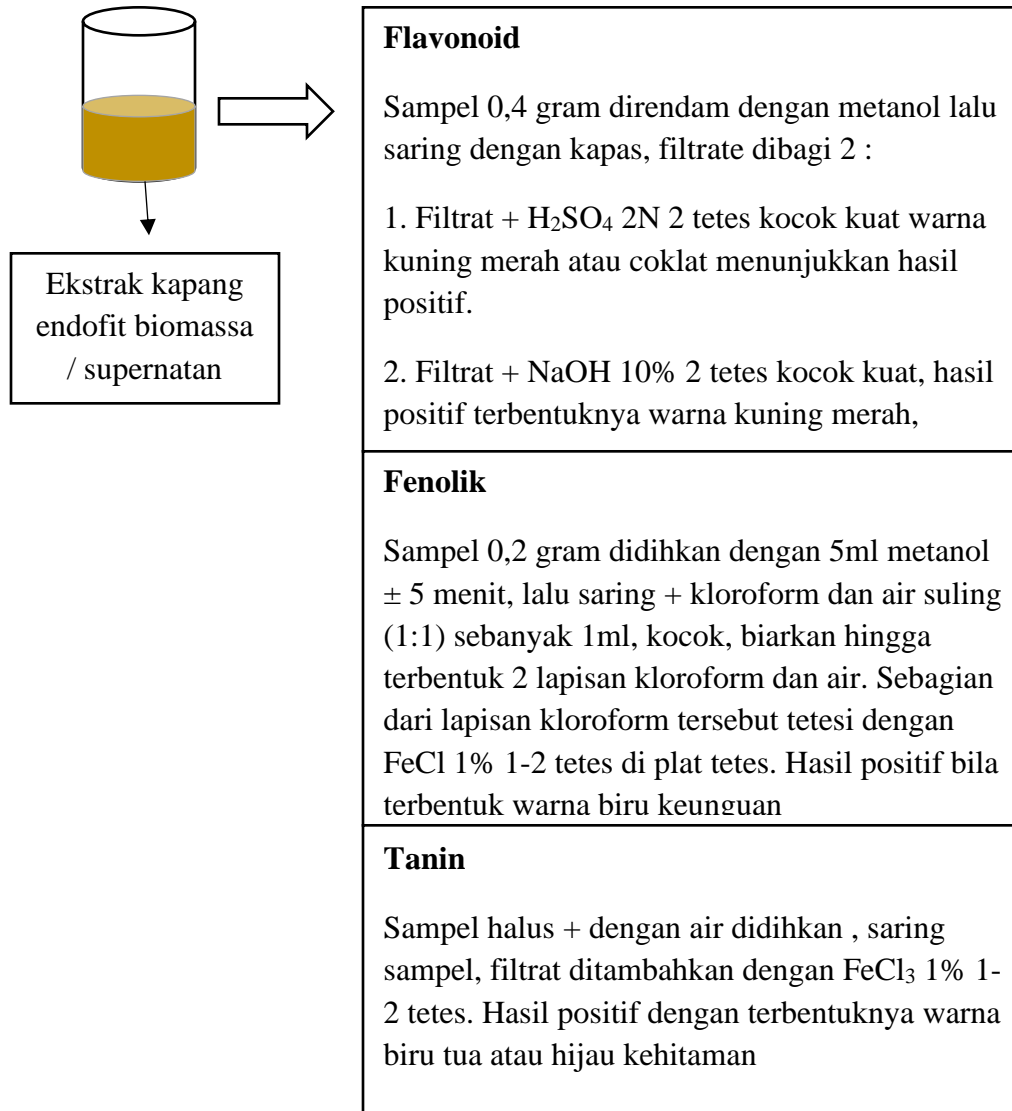
Setiap botol kaca dimasukkan 9 lempeng isolat kapang endofit PLC2, yang berisi 300ml media PDB, diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi statis, difermentasikan selama 18 hari



Lampiran 5. Skema Tahapan Ekstraksi Isolat PLC2 Kapang Endofit

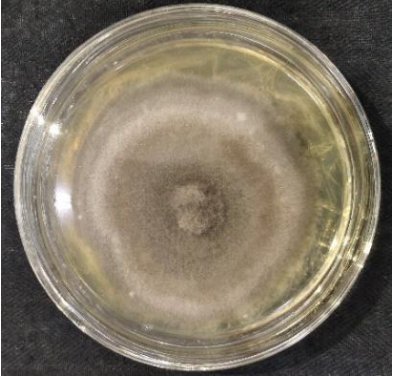
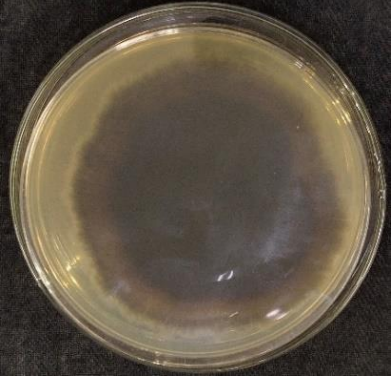


Lampiran 6. Skema Uji Skrining Fitokimia Isolat PLC2 Kapang Endofit

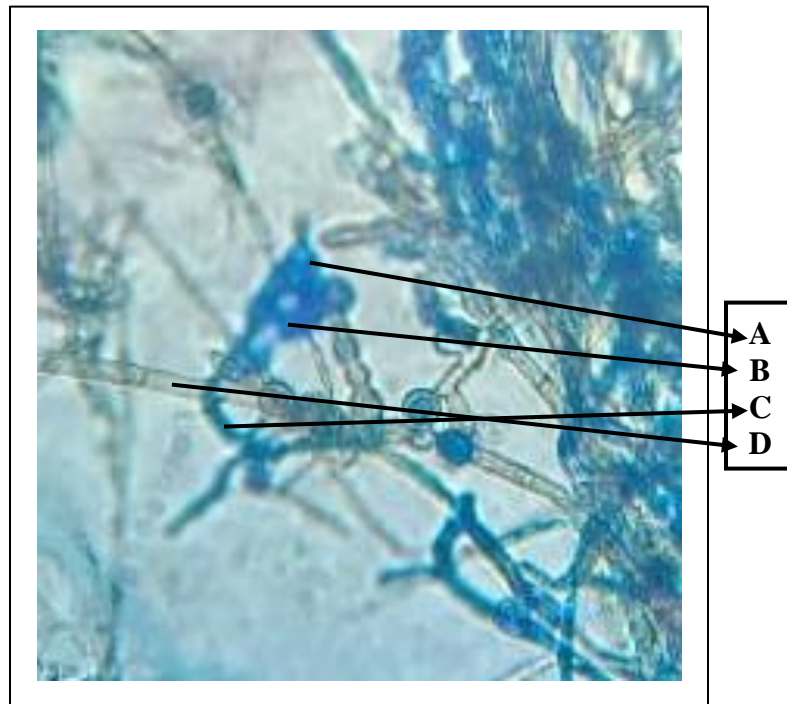


Lampiran 7. Karakteristik Isolat PLC2 Kapang Endofit

Pengamatan Makroskopik Isolat PLC2 Kapang Endofit

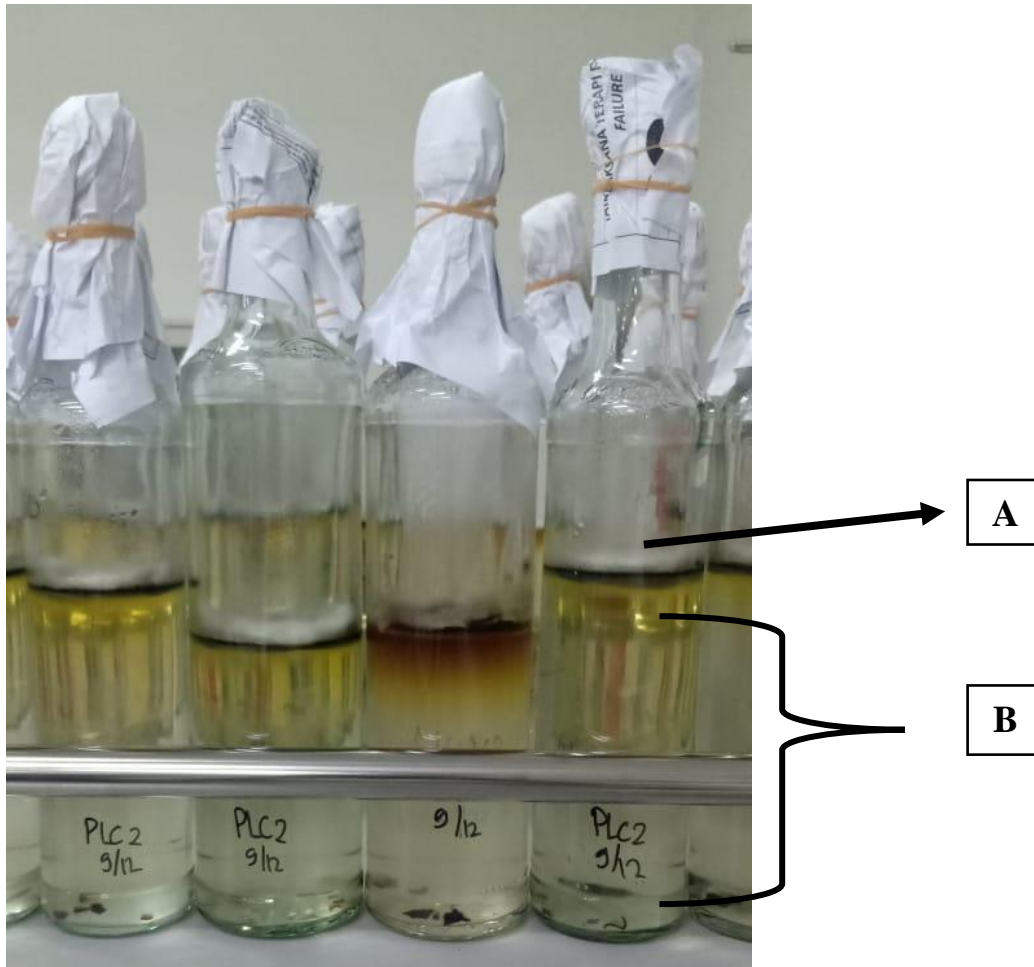
Tampak Atas	Tampak Bawah
	
<p>Ciri-ciri:</p> <ul style="list-style-type: none">(a) Tampak bagian atas hijau keabu-abuan dan tumbuh koloni di bagian pinggir berwarna putih, koloni berbentuk bulat.(b) Permukaan koloni halus, tampak lingkaran konsentris.(c) Tampak dari belakang berwarna hitam dengan bagian tepi berwarna kecoklatan.	

Pengamatan Makroskopis Isolat PLC2 Kapang Endofit



Keterangan :

- Konidia (A)
- Fialid (B)
- Konidiofor (C)
- Hifa berseptat (D)

Lampiran 8. Fermentasi Isolat PLC2 Kapang Endofit

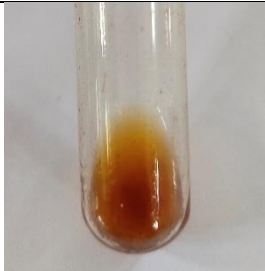

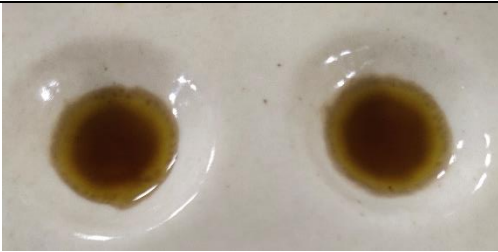

Hasil proses fermentasi selama 21 hari dengan menggunakan metode statis (Diam)

Keterangan : (A) Biomassa Kapang Endofit

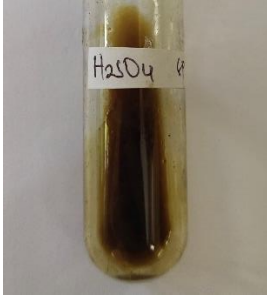



(B) Supernatan Kapang Endofit

Lampiran 9. Skrining Fitokimia Ekstrak Kapang Endofit


Skrining Ekstrak Kapang Endofit PLC2 Biomassa Pelarut Metanol



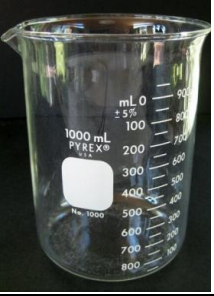







No	Golongan Senyawa	Gambar	Keterangan (Hasil Uji)
1	Flavonoid	 H ₂ SO ₄	warna menjadi kuning merah
		 NaOH	terbentuknya warna coklat
2	Fenolik		tidak terbentuk lapisan kloroform dan air dan terbentuk warna biru keunguan.
3	Tannin		terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman





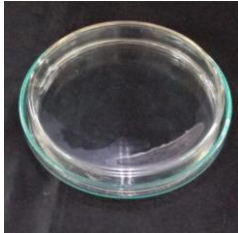





Skринing Ekstrak Kapang Endofit PLC2 Supernatan Pelarut Etil asetat


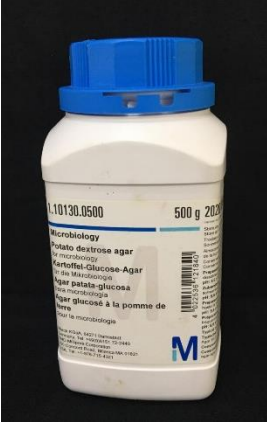

No	Golongan Senyawa	Gambar	Keterangan (Hasil Uji)
1	Flavonoid	 <p>H₂SO₄</p>	Hasil positif bila terdapat perubahan warna menjadi coklat.
		 <p>NaOH</p>	positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning merah atau coklat.
2	Fenolik	 <p>Fend SP PLC2.</p>	tidak terbentuk lapisan kloroform dan air dan terbentuk warna biru keunguan.
3	Tannin		Terbentuknya hijau kehitaman

Lampiran 10. Alat dan Bahan

No	Alat / Bahan	Keterangan	No	Alat / Bahan	Kegunaan
1	Kulkas 	Untuk menyimpan media, ekstrak dan bahan sampel sementara pada suhu 2-8°C	5	Corong 	Alat bantu memindahkan atau memasukkan larutan.
2	Oven 	Sebagai alat sterilisasi dengan menggunakan panas kering, pada suhu 160°C	6	Botol Selai 	Wadah pada saat maserasi ekstrak dan wadah ekstrak.
3	Autoklaf 	Untuk mensterilkan bahan dan alat dengan tekanan tinggi 121°C selama 15-20 menit	7	Statif 	Penjepit corong pisah
4	Laminar Air Flow 	Tempat/ruangan kerja yang steril.	8	Gelas Ukur 	Sebagai alat ukur volume cairan.

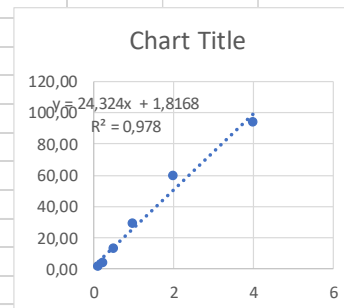
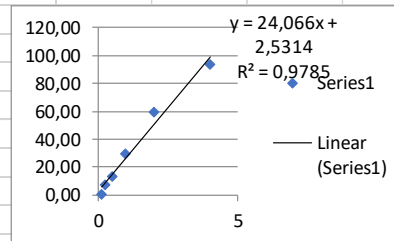
No	Alat/Bahan	Kegunaan	No	Alat/Bahan	Kegunaan
9	Tusuk Gigi 	Sebagai alat memindahkan cuplikkan isolat	14	Lampu Spiritus 	Sebagai alat sterilisasi sebelum menginokulasi sampel, kondisikan area dalam kondisi aseptis
10	Beaker Glass 	Sebagai wadah penampung untuk mengaduk, mencampur dan memanaskan cairan	15	Sedotan 	Untuk membuat cuplikkan pada isolat
11	Botol Kaca 	Sebagai wadah pada proses fermentasi	16	Timbangan Analitik 	Sebagai alat untuk menimbang massa sejumlah bahan hingga ukuran miligram
12	Botol Semprot 	Sebagai wadah Alkohol 70%	17	Hot Plate Stirrer 	Untuk memanaskan dan menghomogenkan sampel
13	Alumunium Foil 	Untuk membungkus atau menutup alat.	18	Saringan 	Untuk memisahkan kentang dari infusanya

No	Alat/Bahan	Kegunaan	No	Alat/Bahan	Kegunaan
19	Pisau 	Untuk memotong bahan	24	Lumpang dan Alu 	Untuk menghaluskan atau menghancurkan biomassa
20	Tabung Reaksi 	Untuk menampung, mencampur dan memanaskan bahan	25	Corong Pisah 	Sebagai alat untuk memisahkan komponen dalam suatu campuran
21	Cawan Petri 	Sebagai alat untuk membiakan sel	26	Rak Tabung Reaksi 	Sebagai tempat meletakkan tabung reaksi
22	Mikroskop 	Melihat karakteristik mikroskopis sampel	27	Ose 	Untuk memindahkan atau mengambil koloni suatu mikrobia pada media
23	Kertas Saring 	Untuk penyaringan pada saat ekstraksi	28	Plat Tetes 	Sebagai wadah mereaksikan larutan

No	Alat / Bahan	Kegunaan
29	<p data-bbox="553 338 675 369">Dextrosa</p> 	<p data-bbox="878 338 1300 407">Sebagai sumber gula pada media PDB</p>
30	<p data-bbox="581 774 647 806">PDA</p> 	<p data-bbox="878 774 1321 844">Sebagai media peremajaan kapang endofit</p>
31	<p data-bbox="561 1230 672 1262">Kentang</p> 	<p data-bbox="878 1230 1321 1341">Sebagai bahan untuk mendapatkan infusa kentang yang digunakan pada komposisi PDB</p>

Lampiran 11. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

LAPORAN DATA PENGUJIAN		
Nomor Order	: K0120001	
Tanggal uji	: 16-01-2020	
Parameter Pengujian	: Aktifitas Antioksidan IC50	
Metode	: DPPH	
Instrumen	: Spektrofotometer Ultraviolet Sinar Tampak (Uv-Vis)	
Spesifikasi	: Cary 60 Agilent	
Jumlah sampel	: 7 (tujuh)	
Kode Sampel	: 0120001-1	
Ulangan 1		
		y=ax+b
		a 24,06
		b 0,978
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0,2484	
0,125	0,2464	0,81
0,25	0,2301	7,37
0,5	0,216	13,04
1	0,1737	30,07
2	0,1006	59,50
4	0,0151	93,92
IC50 =	2,04	
Ulangan 2		
		y=ax+b
		a 24,32
		b 1,816
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0,2446	
0,125	0,2394	2,13
0,25	0,2348	4,01
0,5	0,2123	13,21
1	0,1733	29,15
2	0,0981	59,89
4	0,0145	94,07
IC50 =	1,98	
Rata-rata	2,01	
Stdev	0,04	
RPD	2,80	



Lampiran 12. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Biomassa Isolat PLC2

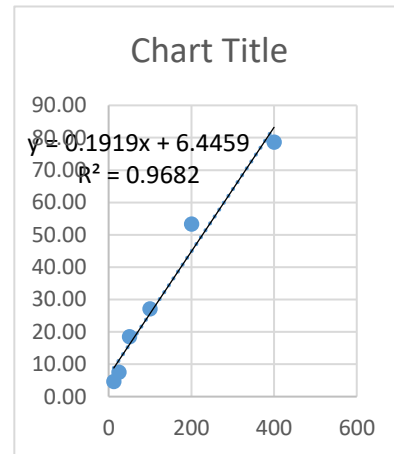
Ulangan 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0.2491	
12.5	0.2375	4.66
25	0.2304	7.51
50	0.2029	18.55
100	0.1815	27.14
200	0.1163	53.31
400	0.0532	78.64
IC50 =	228.04	

$$y=ax+b$$

$$a \quad 0.191$$

$$b \quad 6.445$$



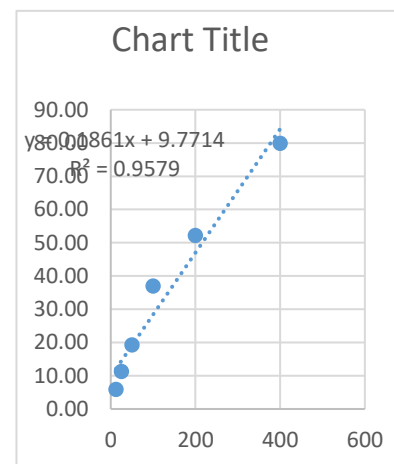
Ulangan 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0.2526	
12.5	0.2379	5.82
25	0.2243	11.20
50	0.204	19.24
100	0.1594	36.90
200	0.1209	52.14
400	0.0508	79.89
IC50 =	223.49	

$$y=ax+b$$

$$a \quad 0.18$$

$$b \quad 9.771$$



Rata-rata **225.77**

Stdev **3.21**

RPD **2.01**

Lampiran 13. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Isolat PLC2

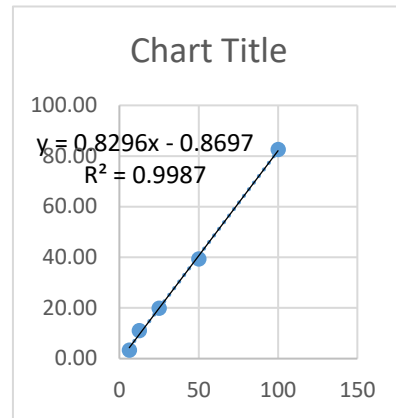
Ulangan 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0.2453	
6.25	0.2369	3.42
12.5	0.2181	11.09
25	0.1963	19.98
50	0.1488	39.34
100	0.0428	82.55
IC50 =	61.36	

$$y=ax+b$$

$$a \quad 0.829$$

$$b \quad -0.869$$



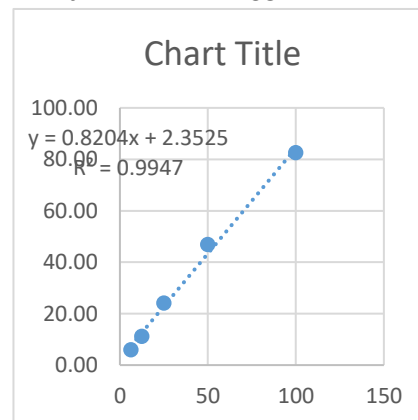
Ulangan 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
	Lambda = 515	
Blanko	0.2492	
6.25	0.2343	5.98
12.5	0.2213	11.20
25	0.1892	24.08
50	0.1325	46.83
100	0.0433	82.62
IC50 =	58.11	

$$y=ax+b$$

$$a \quad 0.82$$

$$b \quad 2.352$$



Rata-rata **59.73**

Stdev **2.30**

RPD 5.45

Lampiran 14. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA
PUSAT LABORATORIUM TERPADU**

Jl. Ir. H. Juanda No. 95 Ciputat 15412 Indonesia

Telp. (62-21) 7401592 Fax. (62-21) 7495967
Website : www.uinjkt.ac.id Email : plt@uinjkt.ac.id

LAPORAN HASIL UJI

No.B-167/F9/KM.01/01/2020

Nomor Order : 0120001
Tanggal Terima : 8 Januari 2020

Nama Pelanggan : Vocalen
Instansi : ISTN

Parameter:

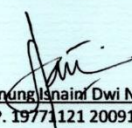
Tanggal Pengujian : 9-16 Januari 2020
Jenis Pengujian : Aktifitas Antioksidan
Metode : DPPH
Instrumen : Spektrofotometer Ultraviolet Sinar Tampak (UV-Vis)
Jumlah Sampel : 7 (Tujuh)

HASIL ANALISIS

No	Kode Sampel		Hasil	Satuan
	Lab	Pelanggan		
1	K-0120001-1	PLC 1 A Supernatan	IC50= 1208,32	ppm
2	K-0120001-2	PLC 1 A Biomassa	IC50=1505,32	ppm
3	K-0120001-3	PLC 2 Supernatan	IC50=59,73	ppm
4	K-0120001-4	PLC 2 Biomassa	IC50=222,16	ppm
5	K-0120001-5	PLC 5 Supernatan	IC50=535,32	ppm
6	K-0120001-6	PLC 5 Biomassa	IC50=557,68	ppm
7	K-0120001-7	Vitamin C	IC50= 1,98	ppm

Jakarta, 17 Januari 2020

Koordinator Bidang Pengujian,


Nunung Isnaini Dwi Ningsih, S.Si, M.Kom
NIP. 1977121200910 2 002




Prof. Dr. H. Nurava Eka Putri, M.Env.Stud.
NIP. 1980404200501 2 005

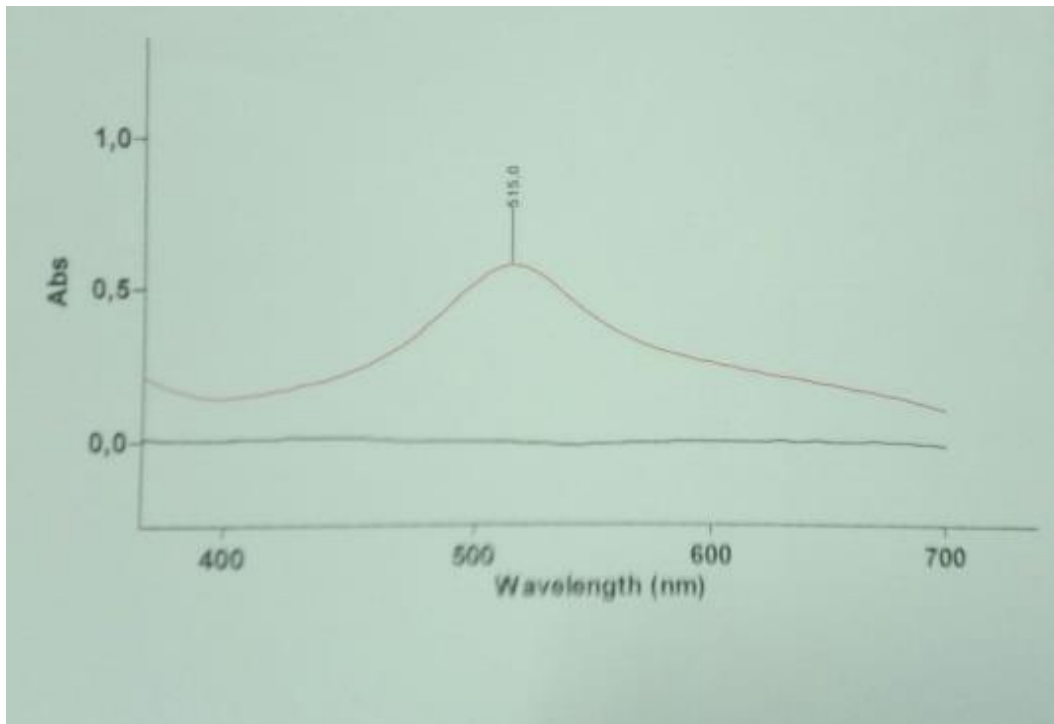
Laporan Hasil Uji ini hanya berlaku untuk sampel yang telah diuji di PLT FST UIN Jakarta

No. Dok. : PLT-FR-030

Tgl. Terbit : 19 November 2018

No.Rev. : 00

Hal : 1/1

Lampiran 15. Hasil Spektra Larutan DPPH 0,002%

Lampiran 16. Perhitungan Dalam Uji Antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH (0,002%)

- Banyaknya DPPH yang ditimbang : 2 mg dilarutkan dalam 100 ml metanol pro analisis
- $2 \text{ mg} = 0,002 \text{ g}$
- $\frac{0,002 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 100\% = 0,002 \%$

2. Pembuatan larutan induk ekstrak etil asetat 100 ppm

- $\frac{\text{mg}}{\text{mL}} = \text{ppm}$
- $\frac{x}{20 \text{ mL}} = 100 \text{ ppm}$
- $x = \frac{100 \mu\text{g}}{\text{ml}} \times 20 \text{ ml} = 2000 \mu\text{g} = 2 \text{ mg}$
- Konsentrasi 1 ppm setara dengan $1 \mu\text{g/mL}$, sehingga untuk membuat konsentrasi 100 ppm dapat dilakukan dengan menimbang 2 mg ekstrak dan dicukupkan dengan methanol p.a hingga 20 mL.

3. Pembuatan pengenceran larutan ekstrak etil asetat

Menggunakan Rumus $V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$

- **6,25 ppm**
 $x \cdot 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 6,25 \text{ ppm}$
 $x = 1,25 \text{ ml}$
- **12,5 ppm**
 $x \cdot 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 12,5 \text{ ppm}$
 $x = 2,5 \text{ ml}$
- **25 ppm**
 $x \cdot 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 25 \text{ ppm}$
 $x = 5 \text{ ml}$
- **50 ppm**
 $x \cdot 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}$
 $x = 10 \text{ ml}$

Dari masing-masing konsentrasi larutan dicukupkan hingga 20 ml dengan metanol pro analisis di dalam labu

4. Pembuatan larutan induk ekstrak metanol 400 ppm

- $\frac{\text{mg}}{\text{mL}} = \text{ppm}$
- $\frac{x}{20 \text{ mL}} = 400 \text{ ppm}$
- $x = \frac{400 \mu\text{g}}{\text{ml}} \times 20 \text{ ml} = 8000 \mu\text{g} = 8 \text{ mg}$
- Konsentrasi 1 ppm setara dengan $1 \mu\text{g/mL}$, sehingga untuk membuat konsentrasi 400 ppm dapat dilakukan dengan menimbang 8 mg ekstrak dan dicukupkan dengan metanol pro analisis hingga 20 mL.

5. Pembuatan pengenceran larutan ekstrak metanol

Menggunakan Rumus $V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$

- **25 ppm**
 $x \cdot 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 25 \text{ ppm}$
 $x = 1,25 \text{ ml}$
- **50 ppm**
 $x \cdot 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}$
 $x = 2,5 \text{ ml}$
- **100 ppm**
 $x \cdot 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}$
 $x = 5 \text{ ml}$
- **200 ppm**
 $x \cdot 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 200 \text{ ppm}$
 $x = 10 \text{ ml}$
- **400 ppm**
 $x \cdot 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ml} \cdot 400 \text{ ppm}$
 $x = 20 \text{ ml}$

Masing-masing konsentrasi larutan dicukupkan hingga 20 ml dengan metanol pro analisis di dalam labu.

6. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 10 ppm

Konsentrasi 1 ppm setara dengan $1\mu\text{g}/\text{ml}$, sehingga untuk membuat konsentrasi 100 ppm dapat dilakukan dengan menimbang 2 mg vitamin C dan dilarutkan dengan methanol p.a hingga 20 ml.

$$- \frac{2 \text{ mg}}{20 \text{ ml}} = \frac{2000\mu\text{g}}{20 \text{ ml}} = 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 100 \text{ bpj}$$

7. Perhitungan Konsentrasi Pengenceran Larutan Vitamin C

Menggunakan Rumus $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

- **0,25 ppm**

$$10 \text{ ppm} \cdot V_1 = 0,25 \text{ ppm} \cdot 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **0,5 ppm**

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

- **1 ppm**

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

- **2 ppm**

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

- **4 ppm**

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 4 \text{ ppm} \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

Masing-masing konsentrasi larutan dicukupkan hingga 20 ml dengan metanol pro analisis di dalam labu.

Lampiran 17. Perhitungan % Inhibisi, IC50 dan AAI Vitamin C

Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi
0.25	0.2301	0.2324	5.7842
	0.2348		
0.5	0.216	0.2141	13.3182
	0.2123		
1	0.1737	0.1735	30.0535
	0.1733		
2	0.1006	0.0993	60.5804
	0.0981		
4	0.0151	0.0148	95.3890
	0.0145		

Nilai Rata-Rata Absorbansi blanko = 0.2465

- % Inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Konsentrasi 0,25 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2465 - 0,2324}{0,2465} \times 100\% = 5,7842\%$$

Konsentrasi 0,5 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2465 - 0,2141}{0,2465} \times 100\% = 13,3182\%$$

Konsentrasi 1 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2465 - 0,1735}{0,2465} \times 100\% = 30,0535\%$$

Konsentrasi 2 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2465 - 0,2141}{0,2465} \times 100\% = 60,5804\%$$

Konsentrasi 4 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2465 - 0,0148}{0,2465} \times 100\% = 95,3890\%$$

- Perhitungan IC50

Diperoleh dari persamaan $IC_{50} = ax + b$

Diperoleh dari 2 pengulangan yaitu : 2,01 ppm

- Perhitungan Nilai AAI

$$AAI \text{ (antioxidant activity index)} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH yang digunakan}}{\text{Nilai } IC_{50} \text{ yang diperoleh}}$$

Konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 2 mg/100 mL = 20 ppm

serta nilai IC50 adalah 2,01 ppm.

$$AAI = \frac{20 \text{ ppm}}{2,01 \text{ ppm}}$$

$$AAI = 9,95$$

Lampiran 18. Perhitungan %Inhibisi, IC50 dan AAI Ekstrak Kapang Endofit Supernatan

Konsentrasi Ppm	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi
6.25	0.2369	0.2356	4.6925
	0.2343		
12.5	0.2181	0.2197	11.1245
	0.2213		
25	0.1963	0.19275	22.0266
	0.1892		
50	0.1488	0.14065	43.1027
	0.1325		
100	0.0428	0.04305	82.5849
	0.0433		

Nilai Rata-Rata Absorbansi blanko = 0,2472

• % Inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Konsentrasi 6,25 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2472 - 0,2356}{0,2472} \times 100\% = 4.6925\%$$

Konsentrasi 12,5 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2472 - 0,2197}{0,2472} \times 100\% = 11,1245\%$$

Konsentrasi 25 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2472 - 0,19275}{0,2472} \times 100\% = 22,0266\%$$

Konsentrasi 50 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2472 - 0,14065}{0,2472} \times 100\% = 43,1027\%$$

Konsentrasi 100 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2472 - 0,04305}{0,2472} \times 100\% = 82,5849$$

- Perhitungan IC50

Diperoleh dari persamaan $IC_{50} = ax + b$

Diperoleh dari 2 pengulangan, yaitu : 59,73 ppm

- Perhitungan Nilai AAI

$$AAI \text{ (antioxidant activity index)} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH yang digunakan}}{\text{Nilai } IC_{50} \text{ yang diperoleh}}$$

Konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 2 mg/100 mL = 20 ppm

serta nilai IC50 adalah 59,73 ppm.

$$AAI = \frac{20 \text{ ppm}}{59,73 \text{ ppm}}$$

$$AAI = 0,334$$

Lampiran 19. Perhitungan %Inhibisi, IC50 dan AAI Ekstrak Kapang Endofit Biomassa

Konsentrasi Ppm	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi
25	0.2304	0.2273	9.350
	0.2243		
50	0.2029	0.2034	18.880
	0.204		
100	0.1815	0.1704	32.037
	0.1594		
200	0.1163	0.1186	57.711
	0.1209		
400	0.0532	0.052	79.266
	0.0508		

Nilai Rata-Rata Absorbansi blanko = 0,2508

- % inhibisi =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Konsentrasi 25 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2508 - 0,2273}{0,2508} \times 100\% = 9.350\%$$

Konsentrasi 50 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2508 - 0,2034}{0,2508} \times 100\% = 18.880\%$$

Konsentrasi 100 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2508 - 0,1704}{0,2508} \times 100\% = 32.037\%$$

Konsentrasi 200 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2508 - 0,1186}{0,2508} \times 100\% = 57.711\%$$

Konsentrasi 400 ppm =

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,2508 - 0,052}{0,2508} \times 100\% = 79.266\%$$

- Perhitungan IC50

Diperoleh dari persamaan $IC_{50} = ax + b$

Dari 2 pengulangan di peroleh hasil, yaitu : 225,77 ppm

- Perhitungan Nilai AAI

$$AAI (\text{antioxidant activity index}) = \frac{\text{Konsentrasi DPPH yang digunakan}}{\text{Nilai } IC_{50} \text{ yang diperoleh}}$$

Konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 2 mg/100 mL = 20 ppm

serta nilai IC50 adalah 225,77 ppm.

$$AAI = \frac{20 \text{ ppm}}{225,77 \text{ ppm}}$$

$$AAI = 0.088$$

Lampiran 20. Hasil Ekstrak Isolat PLC2 Kapang Endofit**- Biomassa****- Supernatan**