

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER JAMUR
ENDOFIT BIJI JUWET (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) DAN POTENSINYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :
ELY NURIL FAJRIYAH
NIM. 14620096



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER JAMUR
ENDOFIT BIJI JUWET (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) DAN POTENSINYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :
ELY NURIL FAJRIYAH
NIM. 14620096

Diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Biologi (S. Si)

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER JAMUR
ENDOFIT BIJI JUWET (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) DAN POTENSINYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :

ELY NURIL FAJRIYAH

NIM. 14620096

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal: 2 Desember 2019

Dosen Pembimbing I



Prilya Dewi Nitriasari, M. Sc.

NIPT. 19900428 20160801 2 062

Dosen Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M. Sc

NIP. 19860512 2019031002

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER JAMUR
ENDOFIT BJI JUWET (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) DAN POTENSINYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :

Ely Nuril Fajriyah

NIM. 14620096

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 2 Desember 2019

Penguji Utama :	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji :	<u>Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R., M.P</u> NIP. 19620901 199803 2 001	
Sekretaris Penguji :	<u>Prilya Dewi Fitriyani, M. Sc.</u> NIPT. 19900428 20160801 2 062	
Anggota Penguji :	<u>Mujahidin Ahmad, M. Sc</u> NIP. 19860512 201903 1 002	

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

MOTTO HIDUP

“Let’s be positive, be strong, and be wise”

(Leny, 2019)



HALAMAN PERSEMBAHAN

Tulisan ini ku persembahkan untuk :

Kedua orang tuaku, bapak Abdul Choliq dan ibu Zainiyah yang selalu memberi do'a, kasih sayang, dukungan dan telah membesarkanku dan mendidikku dengan kesabarannya.

Saudara-saudaraku mbak Irjatul Wardah dan mbak Nailatul Mauhibah, mas-mas iparku mas Khoiron, mas Fathul serta keponakanku adek Dzafa, adek Abi, adek Usyfa, adek Anif dan adek Zidan yang telah mebebrikan dukungannya baiknya secara moril dan materil.

Serta semua pihak yang telah membantu dari awal tersusunnya tulisannya ini sampai terselesainya tulisan sederhana ini. ;)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ely Nuril Fajriyah

NIM : 14620096

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian: Idemtifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit
Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dan Potensinya
Sebagai Antioksidan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pata daftar pustaka. Apabila dikemudian terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 Desember 2019

Yang membuat pernyataan



Ely Nuril Fajriyah
NIM. 14620096

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik yang berjudul “ Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels. dan Potensinya Sebagai Antioksidan” Sholawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang telah mengantarkan kita ke jalan yang terang menuju jalan kebenaran.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D. Sc. selaku ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc. dan Mujahidin Ahmad, M. Sc. selaku dosen pembimbing yang dengan sabar dan ikhlas telah memberikan bimbingan, pengarahan serta motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R., M.P. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesaikannya skripsi ini.
6. Suyono, M.P. selaku dosen wali yang telah memberikan saran, nasehat, arahan serta dukungan sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.
7. Seluruh Dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Biologi maupun Fakultas Saintek yang telah membantu dan memberikan saran serta memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu.
8. Kedua orang tua bapak Abdul Choliq dan ibu Zainiyah yang selalu memberikan do'a, semangat serta motivasinya untuk menyelesaikan tulisan ini. Terimakasih bapak ibuku.
9. Mbak Ira, Mbak Nila, Mas Ron, Mas Fathul, Adek Dzafa, Adek Abi, Adek Usyfa, Adek Anif dan Adek Zidan yang telah memberi support dan do'anya.

10. Teman-teman Biologi angkatan 14 (Telomer), khususnya kelas Biologi D (Hura-hura) yang telah membantu dan menyemangati untuk menyelesaikan skripsi ini.

11. My brotherhood: mak Lel, Fika, Gea, Meme, Eka. Teman-teman terdekat mak Tin, Ema, Ai (Ayu), Aisyah, mb Mif, Dila, Affan, Tedi, Iqbal F.A, mbak Shod, Ijjah, Melly, Ira, mbak Luha. Teman-teman Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Nisul, Nisa, Yoda, Dita, Hari, dan Rifki serta teman seimbangku Nada Hanin dan Fauqi yang mau dengan senang hati selalu siap siaga meluangkan waktu, tempat dan uangnya ketika saya butuh. Thanks a lot guys.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun untuk sempurnanya skripsi ini sangat penulis harapkan. Semoga dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amin.*

Malang,
Penulis

Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dan Potensinya sebagai Antioksidan

Ely Nuril Fajriyah, Prilya Dewi Fitriasari, Mujahidin Ahmad

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dari golongan tanin jamur endofit biji juwet dan kemampuannya sebagai sumber antioksidan. Metode yang digunakan (1) peremajaan jamur endofit biji juwet S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) koleksi laboratorium Mikrobiologi UIN Malang. (2) kurva pertumbuhan. (3) ekstraksi senyawa metabolit sekunder jamur endofit biji juwet. (3) metode identifikasi golongan senyawa menggunakan Kromatogram Lapis Tipis (KLT). (4) uji DPPH. Hasil dari identifikasi senyawa metabolit sekunder adalah isolat jamur S1 (*Phomopsis*.sp.) dan S3 (*Phomopsis* sp.) teridentifikasi memiliki senyawa dari golongan tanin yang diketahui dari terlihatnya plat KLT berwarna abu-abu dengan nilai rf masing-masing 0,71 dan 0,82. Berdasarkan nilai rf tersebut dapat diketahui bahwa senyawa yang terdapat pada jamur endofit biji juwet isolat S1 (*Phomopsis* sp.) dan S3 (*Phomopsis* sp.) adalah senyawa asam tanat. Jamur endofit biji juwet S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 masing-masing sebesar 69,99 (kuat), 110,10 (sedang) dan 86,22 (kuat).

Kata Kunci: Jamur endofit, Biji Juwet, Tanin, Antioksidan

Identification Of Secondary Active Metabolite of Endophytic Fungi from Juwet Seed (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) and its Potential as Antioxidant

Ely Nuril Fajriyah, Prilya Dewi Fitriasari, Mujahidin Ahmad

ABSTRACT

This research intend to knowing the presence of secondary metabolite compound of tannin group endophytic fungi of juwet seed and his abilities to be source of antioxidant. The methodes used (1) Re-culture of endophytic fungi juwet seed S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructicola*) and S3 (*Phomopsis* sp.). (2) The extraction of secondary metabolite compound of endophytic fungi uwet seed. (3) The methode identification of compound group used Thin Layer Chromatogram (TLC). (4) Antioxidant test. The result of sedondary metabolit compound is isolate of endophytic fungi S1 (*Phomopsis* sp.) and S3 (*Phomopsis* sp.) be indentified have a compound from tannin group which known and seen on TLC getting gray colour with rf value of each other 0,71 and 0,82. Based on that rf value can be know that compound which are contained in endophytic fungi of juwet seed isolates S1 and S3 are tannic acid. The endophytic fungi of juwet seed S1, S2 and S3 have antioxidant activity with IC50 value each other 69,99 (strong), 110,10 (medium) and 86,22 (strong).

Keyword : endophytic fungi, juwet seed, tannin. antioxidant

تحديد مركبات النشطة لأىضية الثانوية الفطرية إندوفيت لبذور جويت (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) وإمكاناتها كمضاد للأكسدة

إلى نور الفجرية، فريليا ديوي فترياساري، مجاهدين أحمد

ملخص البحث

يهدف هذا البحث لأن يحدد وجود مركبات أىضية ثانوية من مجموعة التانين الفطرية إندوفيت لبذور جويت وقدرتها كمصدر لمضادات الأكسدة. الطريقة المستخدمة هي (1) تجديد الفطرية إندوفيت لبذور جويت S1 (*Phomopsis sp.*)، (2) *Collectotrichum fruticola* S2 و (*Phomopsis sp.*) S3 مجموعة مختبر علم الاحياء المجهرى لجامعة مولانا مالك إبراهيم الاسلامية الحكومية مالانج (2) منحى النمو. (3) استخراج مركبات الأىضية الثانوية الفطرية إندوفيت لبذور جويت. (3) تحديد لمجموعة المركبات هو باستخدام اللونية الطبقة الرقيقة (4) (TLC) اختبار DPPH نتائج تحديد مركبات الأىضية الثانوية هي العزلة الفطريات (*Phomopsis sp.*) S1 و (*Phomopsis sp.*) S3 التى تحتوى على مركبات من مجموعة التانين التى عرفت من ظهور صفائح KLT رمادية بقيم RF تبلغ 0,71 و 0 على التوالي و 82 و ثلاثة الفطريات إندوفيت لبذور جويت أي S1 (*Phomopsis sp.*) و (*Collectotrichum* S2 (*Phomopsis sp.*) و (*fruticola*) S3 لها نشاط لمضاد للأكسدة بقيمة IC50 و على التوالي 69,99 (قوية) ، 110,10 (متوسطة) و 86,22 (قوية)

الكلمات الرئيسية: الفطرية إندوفيت، بذور جويت، التانين، مضاد الأكسدة

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIHAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
ملخص البحث	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeel).....	9
2.1.1 Kandungan Kimia Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeel)	12
2.1.2 Manfaat Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeel)	13
2.2 Jamur Endofit.....	14
2.2.1 Pengertian Jamur Endofit.....	14
2.2.2 Asosiasi Jamur Endofit dengan Tanaman Inangnya	16
2.3 Radikal Bebas	17
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	17
2.3.2 Antioksidan	18
2.4 Kromatografi Lapis Tipis.....	22
BAB III. METODE PENELITIAN	25
3.1 Rancangan Penelitian.....	25
3.2 Waktu dan Tempat	25

3.3	Alat dan Bahan.....	25
3.3.1	Alat.....	25
3.3.2	Bahan	26
3.4	Prosedur Kerja	26
3.4.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	26
3.4.2	Pembuatan Media.....	26
3.4.2.1	Media PDA	26
3.4.2.2	Media PDB	27
3.4.3	Peremajaan Jamur Endofit	27
3.4.4	Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit	27
3.4.5	Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit sekunder	28
3.4.6	Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dengan KLT.....	28
3.4.7	Uji Antioksidan.....	29
3.5	Analisis Data.....	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		31
4.1	Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Jamur Endofit Biji Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.).....	31
4.1.1	Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit Biji Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L) Skeels.).....	31
4.1.2	Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Jamur Endofit Biji Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L) Skeels.).....	33
4.2	Aktivitas Antioksidan Jamur Endofit Biji Juwet (<i>Syzygium cumini</i> (L) Skeels.).....	38
BAB V. PENUTUP.....		45
5.1	Kesimpulan	45
5.2	Saran	45
DAFTAR PUSTAKA		46
LAMPIRAN.....		54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Pohon juwet (A), batang (B), bunga (C), buah juwet muda (D), buah juwet hampir matang (E), buah juwet matang (F).....	11
2.2 . Reaksi DPPH dengan antioksidan.....	22
4. 1 Kurva pertumbuhan jamur endofit biji juwet S1 (<i>Phomopsis</i> sp.), S2 (<i>Colletotrichum fructicola</i>) dan S3 (<i>Phomopsis</i> sp.)	31
4. 2 Identifikasi golongan senyawa Gambar hasil KLT dengan panjang gelombang UV 365 nm. S3 (<i>Phomopsis</i> sp.), S1 (<i>Phomopsis</i> sp.) dan S2 (<i>Colletotrichum fructicola</i>). Adanya senyawa metabolit sekunder ditunjukkan oleh tanda panah hitam.....	34



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2. 1 kandungan kimia tanaman juwet pada setiap bagian tanaman.....	13
4. 1 Hasil nilai r_f dari uji KLT jamur endofit biji juwet	33
4. 2 Data hasil inhibisi dan IC_{50} dari uji senyawa antioksidan jamur endofit biji juwet dan asam askorbat	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Penelitian	54
Lampiran 2. Tabel Hasil Kurva Pertumbuhan	55
Lampiran 3. Perhitungan	55
Lampiran 4. Gambar	61



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nabi Muhammad SAW bersabda :

عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ: لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ
{رواه مسلم}

Artinya : Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah SWT 'Azza wa jalla. (HR. Muslim no 2204).

Hadits diatas menjelaskan bahwa setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT pasti ada obatnya dan dengan izin Allah SWT akan sembuh melalui perantara suatu obat. Manusia sebagai orang yang berakal harus mencari obat untuk suatu penyakit. Ketika obat tersebut cocok dengan penyakit yang diderita maka atas izin Allah SWT penyakit tersebut akan sembuh. Seperti halnya penyakit yang timbul akibat banyaknya jumlah senyawa radikal bebas yang ada di tubuh. Radikal bebas dapat dicegah dengan adanya senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut akan menyediakan pasangan elektron untuk radikal bebas, sehingga dengan tersedianya pasangan elektron bagi radikal bebas akan mengurangi dampak buruk dari efek senyawa radikal bebas yang banyak di tubuh.

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil. Molekul radikal bebas memiliki elektron-elektron yang reaktif, yang dapat melakukan reaksi-reaksi kimia dengan elektron-elektron lain yang bukan pasangannya. Sehingga elektron-elektron tersebut jika berpasangan dengan pasangan yang salah akan menimbulkan masalah bagi kesehatan. Hal ini juga dijelaskan oleh Sayuti (2015) bahwa radikal bebas merupakan bentuk senyawa oksigen yang tidak berpasang dan sangat reaktif.

Radikal bebas yang reaktif dapat melakukan ikatan pasangan elektron dengan elektron manapun. Beberapa faktor yang dapat ditemui saat ini dapat menjadikan banyaknya senyawa radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan. Diet (pola makan sendiri) juga dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan dapat merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif (Mohammad *et al.*, 2008; Winarti, 2010 *dalam* Sayuti 2015).

Akumulasi senyawa radikal bebas yang tinggi akan berdampak pada kesehatan yang dapat mempengaruhi proses penuaan dan penyakit yang berkaitan dengan usia, seperti kardiovaskuler, kanker, kelainan neurodegeneratif dan penyakit kronis lainnya. Akibat dari adanya kelainan neurodegeneratif dapat menyebabkan rusaknya sel saraf dan otak. Selain itu juga dapat menyebabkan peradangan, pengapuran tulang, penimbunan kolesterol akibat tingginya kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), gangguan autoimun, katarak, rheumatoid dan arthritis (Zalukhu, 2016; Alif, 2010 dan Pham-huy *et al.*, 2008).

Dampak dari akumulasi senyawa radikal bebas yang tinggi dalam tubuh sangat berbahaya bagi kesehatan. Sesungguhnya di dalam tubuh manusia telah terdapat pengaturan sendiri untuk menanggulangi adanya senyawa radikal bebas senyawa tersebut disebut dengan enzim antioksidan, akan tetapi jika senyawa radikal bebas di tubuh lebih tinggi jumlahnya dibanding dengan enzim antioksidan tubuh maka diperlukan senyawa antioksidan lain yang dapat membantu senyawa antioksidan di dalam tubuh (Pietta, 199). Senyawa-senyawa tersebut dapat berupa vitamin C, E, A, karoten, asam fenol, polifenol dan flavonoid yang dapat ditemukan di tumbuhan (Okawa *et al.*, 2001).

Senyawa antioksidan dari tumbuhan akan membantu enzim antioksidan dalam tubuh untuk menangkap senyawa radikal bebas supaya tidak terjadi penimbunan dan mengurangi dampak negatif dari akibat jumlah radikal bebas yang terlalu banyak di tubuh. Selain untuk mengurangi dampak negatif dari radikal bebas, senyawa antioksidan juga mempunyai peranan antar lain sebagai anti-aging (Masaki, 2010), mengurangi resiko kardiovaskular (Bahorun *et al.*, 2006), mengurangi resiko LDL (Hartati, 2017), obat diabetes (Nasri *et al.*, 2015) dan sebagainya.

Menurut Peyravi (2013) menyatakan bahwa salah satu konsep utama dalam Al-Quran adalah pengobatan Quranik. Terdapat 3 kategori kesehatan manusia dalam pengobatan Quranik antara lain pengobatan, perawatan kesehatan dan kesejahteraan. Hal yang harus diperhatikan dalam kesehatan adalah mencari makanan yang dimakan, memakan makanan yang sehat dan bersih, memperkenalkan makanan yang sehat dan tidak berbahaya bagi tubuh sehingga dampaknya akan terlihat pada kesehatan. Salah satu cara untuk menjaga kesehatan tubuh adalah dengan memilih makanan yang baik untuk tubuh, sehingga tubuh akan terjaga dari serangan penyakit.

Salah satu sumber makanan yang sehat dan baik untuk dikonsumsi adalah tumbuhan. Tumbuhan memiliki manfaat yang banyak jika dikonsumsi dan sangat baik bagi kesehatan. Sebagaimana dalam firman Allah SWT surah As-Syuara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ {٧}

Artinya : tidakkah kaum memerhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuhan yang baik?

Berdasarkan ayat diatas pada lafadz “*min kulli zaujin kariim*” yang memiliki arti berbagai macam tumbuhan yang baik. Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan dan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan, pepohonan yang berbuah dan hewan yang baik di bumi (Abdullah, 2004). Tumbuhan yang baik disini adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Salah satu manfaatnya adalah dapat digunakan sebagai

obat. Tumbuhan memiliki senyawa yang dapat menyembuhkan atau menghambat penyakit. Begitu juga penyakit-penyakit yang ditimbulkan oleh banyaknya senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan yang ada di tumbuhan dapat mengurangi reaksi stress oksidasi. Salah satu tumbuhan yang mempunyai senyawa antioksidan adalah tumbuhan juwet.

Tumbuhan Juwet (*Syzygium cumini*) merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di wilayah Asia. Di dunia medis tumbuhan juwet dikenal sebagai obat tradisional. Bagian dari tumbuhan juwet yang mempunyai aktivitas antioksidan adalah buah dan biji juwet. Berbeda buahnya yang memiliki kandungan antosianin, biji juwet juga memiliki kandungan asam polifenol yang mampu berperan sebagai antioksidan. Ayyanar (2012) menambahkan biji juwet mempunyai kandungan alkaloid, jambosin, dan jambolin glikosida atau antimelin yang dapat menghentikan perubahan pati menjadi gula, juga kaya akan senyawa flavonoid yang umumnya diketahui sebagai sumber antioksidan yang mempunyai dampak positif membantu menangkap radikal bebas dan melindungi enzim antioksidan dalam tubuh. Selain sebagai sumber senyawa antioksidan, biji juwet juga memiliki manfaat lain yaitu menjadi antidiabet (Sridhar, 2005), kardioprotektif (Soncharan, 2010), antibakteri (Meshram, 2011), anti-kanker (Parmar, 2013) dan sebagainya. Banyaknya senyawa yang terkandung di biji, maka banyak juga manfaatnya.

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa biji juwet mempunyai senyawa yang dapat dimanfaatkan dalam bidang medis, akan tetapi buahnya yang musiman menjadi kendala pemanfaatan biji. Selain itu tanaman juwet mulai jarang ditemukan. Salah satu cara menanggulangnya dilakukan dengan mengisolasi mikroba endofit yang terdapat di jaringan biji juwet. Salah satu mikroba endofit yang dapat diisolasi dan dimanfaatkan senyawa metabolitnya adalah jamur endofit. Strobel (2003) menambahkan bahwa jamur endofit tinggal di jaringan sehat tumbuhan baik itu dalam jaringan akar,

batang dan daun yang dapat menghasilkan senyawa metabolit yang sama dengan inangnya yang memiliki daya antimikroba, antimalaria dan sebagainya.

Keuntungan lain dengan memanfaatkan jamur endofit sebagai alternatif pemanfaatan buah juwet adalah waktu perkembangan jamur endofit lebih cepat dibanding dengan masa berbuah juwet, sehingga efisien dalam segi waktu produksi senyawa metabolit sekunder. Jamur endofit termasuk organisme eukariotik yang mempunyai vakuola lebih besar dibanding organisme prokariotik, sehingga hasil senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan banyak dibanding dengan bakteri endofit (Schulz & Boyle, 2006; Subowo, 2011).

Hubungan antara mikroba endofit dan inangnya merupakan bentuk simbiosis mutualisme. Akibat adanya hubungan simbiosis mutualisme tersebut menyebabkan tranfer genetik tanaman inangnya ke dalam tubuh mikroba endofit, sehingga akan mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama seperti antioksidan, asam fenol dan derivatnya (Haniah, 2008; Radji, 2005 dan Yulianti, 2012).

Penelitian aktivitas antioksidan pada biji juwet telah banyak dilakukan, seperti dalam Rohadi *et al.* (2016) yang dalam penelitiannya berkaitan dengan aktivitas antioksidan. Ekstrak biji juwet mempunyai daya penangkapan radikal bebas dengan menggunakan senyawa DPPH sebesar 87-95% ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Beberapa peneliti lain juga telah melakukan penelitian yang sama untuk menguji adanya aktivitas antioksidan pada biji juwet seperti yang dilakukan oleh Nair *et al.* (2013) yang meneliti aktivitas antioksidan, antibakteri dan aktivitas sitotoksik ekstrak biji juwet, dan Aqil (2012) yang meneliti aktivitas antioksidan dan antipolirative pada biji juwet. Hasil dari penelitian-penelitian diatas menyatakan bahwa ekstrak biji juwet mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas dengan baik. Meskipun biji juwet tidak mengandung antosianin, akan tetapi biji juwet mempunyai senyawa asam ellagik yang tinggi dan total

polifenol (2,7%) lebih tinggi dibanding dengan ekstrak daging buah juwet, sehingga biji juwet dapat menjadi kandidat baik sebagai antioksidan. Hal ini memungkinkan jamur endofit pada biji juwet juga mempunyai senyawa antioksidan berupa golongan senyawa tanin.

Pemanfaatan jamur endofit penghasil senyawa antioksidan telah banyak dilakukan. Untuk mengetahui jamur endofit pada biji juwet memiliki daya antioksidan menggunakan metode DPPH. Yadav *et al.* (2014) telah mengisolasi jamur endofit tanaman juwet di bagian jaringan daun, tangkai daun dan batang, menyatakan bahwa *Chaetomium* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus peyronelii* dan *Aspergillus niger* hasil isolasi dari berbagai bagian tanaman juwet memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang tinggi berkisar antara 50%-80%.

Berdasarkan paparan penelitian diatas, diketahui bahwa biji juwet mempunyai aktivitas antioksidan yang berperan penting untuk kesehatan. Terutama untuk mengurangi resiko penyakit kronis dan mencegah munculnya penyakit degeneratif. Hanin (2019) pada penelitiannya telah mengisolasi dan mengidentifikasi jamur endofit biji juwet. Namun belum diketahui mengenai potensi jamur endofit tersebut, maka diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui jamur endofit biji juwet S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai sumber antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah terdapat golongan senyawa metabolit sekunder pada jamur endofit biji juwet (*Syzygium cumini*)?

2. Apakah senyawa metabolit sekunder dari jamur endofit biji juwet (*Syzygium cumini*) mempunyai kemampuan sebagai antioksidan?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui adanya golongan senyawa metabolit sekunder pada jamur endofit biji juwet.
2. Mengetahui kemampuan senyawa aktif metabolit sekunder dari jamur endofit biji juwet (*Syzygium cumini*) sebagai antioksidan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang melandasi penelitian ini adalah :

1. Terdapat golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak jamur endofit biji juwet (*Syzygium cumini*).
2. Senyawa aktif metabolit sekunder dari jamur endofit biji juwet (*Syzygium cumini*) mempunyai kemampuan sebagai antioksidan.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat antara lain :

1. Memberikan informasi untuk bidang mikrobiologi mengenai potensi fungi endofit dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa antioksidan.
2. Senyawa yang telah didapat diharapkan nantinya dapat dikembangkan dan diaplikasikan dalam menanggulangi penyakit akibat radikal bebas.

1.6 Batasan Masalah

Supaya penelitian ini lebih terarah, maka penelitian ini perlu dibatasi. Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Jamur endofit yang digunakan merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Jumlah jamur endofit yang digunakan untuk penelitian ini sebanyak 3 jamur endofit dengan nama ilmiah isolat S1 *Phomopsis* sp, isolat S2 *Collectrichum fructicola*, isolat S3 *Phomopsis* sp.
2. Ekstrak kasar diperoleh dari hasil ekstraksi biomassa jamur endofit.
3. Identifikasi senyawa aktif metabolit sekunder jamur endofit menggunakan metode kromatografi lapis tipis.
4. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH (1-1-difenil-2-pikrihidrazil).
5. Instrumen yang digunakan untuk mengukur absorbansi sampel adalah Spektrofotometer.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeel)

Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan dalam bentuk, warna dan bau yang berbeda-beda. Dengan diciptakannya tumbuhan yang berbeda-beda akan berbeda pula manfaat yang dimilikinya. Sebagaimana dalam Al Quran surah Az-Zumar ayat 21 yang berbunyi :

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَنُهُ ثُمَّ يَهِيَجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا
ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ {٢١}

*Artinya : Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah SWT menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu **tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya**. Lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuningan, kemudian dijadikannya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu kemudian terdapat pelajaran bagi yang mempunyai akal.*

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan yang kemudian akan ditumbuhkannya tumbuhan yang bermacam-macam. Tafsir Ibnu Katsir pada lafadz “*zar’an mukhtalifan alwanuhu*“ menjelaskan bahwa air yang diturunkan dari langit tersebut akan dijadikan sebagai sumber mata air yang kemudian ditumbuhkannya tumbuhan yang beraneka ragam bentuk, rasa, bau dan manfaatnya (Abdullah, 2004).

Allah SWT menunjukkan kekuasaan-Nya dengan menciptakan berbagai macam tumbuhan, pada ayat diatas Allah SWT memerintahkan umat manusia untuk berpikir tentang kekuasaan-Nya. Sebagaimana pula firman Allah SWT dalam surah Ali Imran ayat 190 “... *sungguh terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal*”. Dalam ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan umat manusia untuk berfikir dan mengambil pelajaran yang pada sesuatu apapun telah diciptakan-Nya. Seperti halnya

berbagai jenis tumbuhan diciptakan Allah SWT memiliki manfaat yang berbeda disetiap jenisnya, sehingga perlu adanya pengkajian untuk mengetahui manfaat yang dimilikinya. Dengan diketahui manfaat yang dimiliki suatu tumbuhan maka manusia dapat memanfaatkan tumbuhan tersebut dengan baik. Salah satu tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat adalah juwet. Tumbuhan juwet memiliki banyak manfaat salah satunya dibidang medis.

Juwet merupakan tumbuhan yang tumbuh di wilayah tropis. Juwet banyak tumbuh di Pakistan, India, Banglades dan Indonesia. Semua organ tanaman juwet dapat dimanfaatkan sebagai obat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa batang, daun dan buah juwet mempunyai senyawa antioksidan, antiinflamasi, obat cacing, antikanker, antibakteri dan antidiabetes. Akan tetapi, daun dan kulit batang mempunyai memiliki paling banyak senyawa bioaktif (Haroon, 2015 dan Sah, 2011).

Menurut USDA (*USA Departemen of Agriculture*) (2015) tanaman juwet memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i> P. Br. ex Gaertn.
Spesies	: <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.

Tanaman juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) memiliki tinggi 30 meter dengan diameter batang 40-90 cm. Letak daunnya berhadap-hadapan dan berbentuk bulat telur sampai lonjong. Panjang daun berkisar antara 5-25 cm dan lebarnya 2–10 cm. Permukaan atas daun berwarna hijau tua dan permukaan bawahnya berwarna kekuningan. Bunga tanaman juwet berwarna putih sampai merah muda, bunga majemuk yang cabangnya berjauhan, bunga duduk, dan mempunyai benang sari yang banyak. Bentuk buah lonjong, kulit buah berwarna hijau dan dagingnya putih saat muda, sedangkan ketika matang kulit buah berwarna ungu kehitaman dan daging buanya berwarna putih. Bijinya memiliki panjang 12 cm dengan bentuk lonjong tidak beraturan. Kotiledon berwarna hijau pucat. biji juwet bergerombol mencapai 40 biji, rasanya sedikit pahit (Verheiji & Coronel, 1997; Dalimartha, 2003; Ramya *et al.*, 2012). Berikut morfologi buah juwet dalam gambar 2.1.



Gambar 2.1. Pohon juwet (A), batang (B), bunga (C), buah juwet muda (D), buah juwet hampir matang (E), buah juwet matang (F)

Masa berbuah dari tanaman ini berbeda-beda dari tempat tumbuhnya. Di India dan Florida tanaman juwet mulai berbunga di Bulan Februari dan Maret, kadang-kadang di Mei – Juli masih terdapat bunga. Sedangkan di Jawa tanaman Juwet berbunga di bulan Juli – Agustus dan matang di bulan September – Oktober. Satu pohon juwet yang berusia 5 tahun dapat menghasilkan 700 biji juwet. Buah juwet yang matang akan berwarna keunguan (Morton, 1987 dan Chaudhary & Mukhophadyay, 2012).

2.1.1 Kandungan Kimia Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeel)

Genus *Syzygium* secara umum mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, tepenoid yang dapat digunakan di bidang medis seperti antiradang, penahan rasa sakit dan anti jamur. Tanaman juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) sendiri memiliki kandungan kimia antara lain anti-melin, jambulol atau jambolin, tanin (12-19% di batang, 12 – 13% di daun dan 8 – 9% di kulit batang), asam galat, asam palmitat, amilum dan filosterol, asam asetil oleanolat, tripenoid, asam elagat, isokuersetin, kaemferol, mirisetin, asam galat (Mahmoud *et al.*, 2001; Tampubolon, 1995; Rastogi & Mehrotra, 1990).

Kumar *et al.*, (2012); Ramya *et al.*, (2012); dan Ayyanar (2012) menyatakan bahwa biji juwet mengandung senyawa kimia antara lain alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, fitosterol, saponin, tannin, triterpenoid, jambosin, korilagin, kuersetin, β – sitosterol, asam galat, asam elagat, asam laurat glikosida, resin lemak dan minyak atsiri. Jambolin merupakan senyawa glikosida yang memiliki aktivitas antidiabetes. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan oleh Aqil (2012) Biji juwet mempunyai senyawa asam ellagik dan polifenol yang tinggi dibanding dengan ekstrak buah juwet, sehingga meskipun tidak memiliki kandungan antosianin biji juwet juga memiliki aktivitas antioksidan karena hadirnya 2 senyawa diatas. Tukiran *et al.* (2017) menambahkan senyawa asam ellagik merupakan salah satu senyawa dari group senyawa fenol yang

memiliki kemampuan aktivitas antioksidan. Berikut kandungan tanaman juwet di setiap bagian organnya menurut Ayyanar (2012); Sikder (2012); Rohadi (2017) dalam tabel 2.1

Tabel 2.1 Kandungan kimia tanaman juwet pada setiap bagian tanaman

No.	Bagian	Kandungan
1	Biji	Alkaloid, jambosin, jambolin glikosida atau antimelin, asam ellagik, flavonoid, 7-Hydroxycalamenene, methyl- β -orselinate, β -sisterol, asam oleanolik, asam gallik, asam ferulik, asam kafeat.
2	Daun	Asam flavonol, glikosida, kuersetin, <i>myricetin</i> , <i>myricitin</i> , <i>myricetin 3-0-0-acetyl-L-rhamnopyranoside</i> , triterpenoid, esterase, galloyl karboksilase, dan tannin.
3	Kulit Batang	Asam betulunik, friedelin, epifriedelanol, β - sitosterol, eugenin dan asam lemak ester epi – friedelanol, kuersetin kaempferol, <i>myricetin</i> , asam gallik dan asam ellagik, begenin, flavonoid dan tannin.
4	Bunga	Kaempferol, kuersetin, <i>myricetin</i> , isokuersetin (<i>quersetin-3-glucoside</i>), <i>myreceti-3-L-arabinoside</i> , kuersetin-3-D-galaktosa, <i>dihydromyricetin</i> , asam oleanolik, eugenol-triterpenoid A dan eugenol-triterpenoid B. Akarnya Glikosida flavonoid dan isorhamnetin 3-0-rutinosida.
5	Akar	Glikosida flavonoid dan isorhamnetin 3-0-rutinosida
6	Buah	Raffinosa, glukosa, fructosa, asam sitrat, asam malat, asam gallik, antosianin, delphinidin – 3 – gentiobiosida, malvidin – 3 – laminaribiosida, petunidin – 3 – gentiobiosida, sianidin diglikosida, petunidin dan malvidin.
7	Minyak essensial	α - pinene, camphene, β -pinene, <i>myrcene</i> , limonene, cis – Ocimene, trans – Ocimene, γ - terpinene, terpinolene, bornyl – asetat, α - copaene, β - caryophillene, α - Humulene, γ - Cadinene dan δ – Cadinene, α – terpinol, dihidrocarvil asetat, geranil butyrate, terpinil valerata, β – selinene,

2.1.2 Manfaat Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeel)

Tanaman juwet (*Syzygium cumini*) telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Bagian daun dari tumbuhan juwet digunakan untuk memperkuat gigi dan gusi, mengobati keputihan, sakit perut, demam, gastropati, stranguria, dermopati, sembelit dan untuk menghambat keluarnya darah dalam tinja. Kulit kayu dari tanaman juwet juga dapat digunakan untuk penyembuhan luka. Selain itu buahnya dapat

digunakan untuk astringent, sakit maag, dan mengurangi rasa gatal disebabkan oleh gigitan serangga (Baliga *et al.*, 2011).

Watson & Preedy (2012) dan Ayyanar (2012) menambahkan buah juwet dapat dimanfaatkan sebagai zat tonik, kaminatif, dan penyakit limpa. Daunnya untuk mengobati penyakit diabetes, sembelit, keputihan, demam dan menghambat pengeluaran darah dalam tinja. Biji juwet mengandung antimelin atau senyawa glikosida jambolin yang dapat menghentikan perubahan pati menjadi gula, sehingga dapat digunakan sebagai antidiabetes. Selain itu ekstrak bijinya juga dapat menurunkan tekanan darah tinggi dikarenakan adanya senyawa asam ellagik. Biji juwet juga diketahui mempunyai aktivitas antioksidan karena kaya flavonoid. Antioksidan dapat menangkap senyawa radikal bebas dan melindungi enzim antioksidan dalam tubuh.

2.2 Jamur Endofit

2.2.1 Pengertian Jamur Endofit

Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT pasti mempunyai manfaat. Seperti halnya tumbuhan-tumbuhan di bumi akan memiliki manfaat yang berbeda-beda disetiap jenisnya. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Surah Al-An'am:99

فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا {٩٩}

"... lalu Kami tumbuhkan dengan air itu **segala macam tumbuh-tumbuhan**, maka Kami keluarkan tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak..."

Penggalan ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan berbagai macam jenis tumbuhan di bumi. Tafsir Al-Misbah menjelaskan pada lafadz "*faakhrojna bihi nabaata syai*" tersebut Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan di muka bumi berupa buah-buahan yang segar dari berbagai macam tumbuhan dan biji (Sihab, 2017). Banyaknya jenis tumbuhan di bumi maka banyak pula manfaat yang terdapat didalamnya. Beberapa manfaat dari tumbuhan adalah sebagai makanan, obat dan adanya

jamur endofit yang tumbuh di jaringan tumbuhan. Adanya jamur endofit di dalam jaringan tumbuhan akan memiliki senyawa yang sama dengan tumbuhan inangnya. Dengan adanya kesamaan tersebut maka jamur endofit dapat dimanfaatkan pula senyawanya sebagai obat. Dengan banyaknya tumbuhan di bumi ini yang dapat dimanfaatkan, maka jamur endofit yang berada ditumbuhan tersebut dapat juga dimanfaatkan. Sehingga perlu dilakukan lagi pengkajian jamur endofit secara mendalam. Hal ini dapat diterapkan juga terhadap jamur endofit yang berada di biji juwet.

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh di dalam jaringan tanaman dalam periode tertentu dan mampu hidup membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa merugikan inangnya. Mikroba endofit dapat berupa jamur atau bakteri, akan tetapi yang paling banyak dieksplorasi keberadaannya adalah jamur. Mikroba endofit dapat diperoleh dengan cara mengisolasi dari jaringan tanaman seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Bakteri endofit tumbuh di jaringan interselular tumbuhan sedangkan jamur endofit tumbuhan di dalam jaringan inter-maupun intraselular. (Strobel & Daisy, 2003 dan Schulz & Boyle, 2006).

Keberadaan jamur endofit bervariasi di tumbuhan yang spesiesnya sama maupun yang beda. Jamur endofit akan berkolonisasi di setiap bagian jaringan tanaman. Vega *et al.* (2005) menambahkan bahwa kondisi lingkungan dapat membentuk keanekaragaman mikroorganisme endofit yang tumbuh di dalam inangnya.

Jamur endofit yang tumbuh di dalam suatu jaringan tanaman akan memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh jamur endofit antara lain antikanker, antivirus, antibakteri, antifungi. Selain itu dapat dimanfaatkan pula dalam bidang pertanian seperti dapat digunakan sebagai hormon pertumbuhan tanaman dan insektisida (Strobel *et al.* 2004).

2.2.2 Asosiasi Jamur Endofit dengan Tanaman Inangnya

Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, jika jamur endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya atau bahkan hasil senyawa yang dihasilkan lebih tinggi. Dengan keuntungan diatas maka tidak perlu memanen tanaman asli untuk diambil simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk menanamnya (Radji, 2005).

Kemungkinan bahwa terdapat asosiasi biosintesis antara endofit dan senyawa tanaman pertama kali dipahami dan dipublikasikan oleh stierle *et al.* (1993) bahwa jamur endofit *Taxomices andreannae* dapat menghasilkan jutaan senyawa taxol yang dapat digunakan sebagai antikanker, yang mana diisolasi dari pohon cemara (*Taxus brevifolia*) di Pasifik. Baru-baru ini jamur endofit mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder lain yang dapat digunakan unruk obat-obatan seperti artemisinin, morfin, senyawa kanabinoid dan masih banyak lagi (Kusari, 2012).

Menurut Radji (2005) menyatakan bahwa jamur endofit yang mempunyai metabolit sekunder diduga karena adanya koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman tempatnya tumbuh ke dalam jamur endofit. Selain itu terdapat hubungan mutualisme antara jamur endofit dengan inangnya. Hubungan ini sangat penting perannya dalam melindungi tanaman inangnya dari predator dan patogen (Strobel dan Daisy, 2003). Kanti (2005) menambahkan manfaat yang diperoleh inang jamur endofit antara lain meningkatkan laju pertumbuhan tanaman inang, tahan terhadap hama, penyakit, kekeringan, membantu proses penyerapan unsur hara.

Jalgaonwala (2011) menambahkan di tahun 2008 dalam penelitian yang dilakukan oleh Moricca dan Ragazzi menunjukkan bahwa tipe interaksi antara endofit dan tanamannya dikontrol oleh kedua gen masing-masing dan dimodulasi oleh lingkungan.

Dengan adanya endofit tersebut tanaman inang akan mempertahankan dengan memproduksi metabolit sekunder. Asosiasi antara endofit dan tanaman inangnya akan merangsang untuk memproduksi metabolit sekunder.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui fungsi endofit mempunyai kemampuan antioksidan. Menurut Hipol *et al.* (2014) yang melakukan uji aktivitas antioksidan dari buah dan daun strawberry menyatakan bahwa terdapat dua isolat jamur endofit yaitu *Aspergillus awamori* dan *Corynespora cassicola* memiliki aktivitas antioksidan. Juga dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Murthy *et al.* (2011) jamur endofit dari tanaman *Lobelia nicotianifolia* juga menunjukkan aktivitas antioksidan. Dalam penelitian lainnya yang dilakukan oleh Elfita (2012) yang mengisolasi jamur endofit *Acremonium* sp. dari ranting kandis gajah menunjukkan bahwa ekstraksi jamur *Acremonium* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 10,3 $\mu\text{g/mL}$ yang setara dengan aktivitas asam askorbat yang mempunyai nilai IC_{50} 9,0 $\mu\text{g/mL}$.

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil. Molekul radikal bebas memiliki elektron-elektron yang reaktif, yang dapat melakukan reaksi-reaksi kimia dengan elektron-elektron lain yang bukan pasangannya. Sehingga elektron-elektron tersebut jika berpasangan dengan pasangan yang salah akan menimbulkan masalah bagi kesehatan. Hal ini juga dijelaskan oleh Sayuti (2015) dan Khaira (2010) bahwa radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Molekul yang tidak berpasangan tersebut akan mencari pasangan agar stabil. Radikal bebas juga dapat disebut dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Beberapa oksigen reaktif antara lain

peroksinitrit (ONOO), asam hipoklorit (HOCL), single oksigen (O₂), hidroksil ('OH) dan oksida nitrit (NO').

Beberapa faktor yang dapat menimbulkan adanya radikal bebas dalam tubuh antara lain paparan sinar X, asap mobil, bahan kimia yang terkandung dalam makanan seperti pewarna sintetis, bahan kimia termasuk obat-obatan. Pola makan yang salah juga dapat menimbulkan radikal bebas. Radikal bebas yang bersifat reaktif, jika tidak dihentikan akan dapat merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, yang akan menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif (Mohammad *et al.*, 2008; Winarti, 2010 dalam Sayuti 2015).

Zalukhu (2016) menambahkan bahwa apabila radikal bebas di dalam tubuh terlalu banyak akan mempengaruhi proses penuaan. Yang kemudian penyakit tersebut yang berkaitan dengan usia seperti penyakit kardiovaskuler, kanker, kelainan neurodegeneratif akan lebih parah. Alif (2010) menambahkan bahwa radikal bebas juga akan memicu rusaknya saraf dan otak. Selain itu radikal bebas juga dapat terlibat dalam peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan, gangguan fungsi hati, meningkatkan kadar *low density lipoprotein* (LDL) yang kemudian menjadi penyebab penimbunan kolesterol.

2.3.2 Antioksidan

Allah SWT berfirman dalam surah Yasiin ayat 36:

سَبَّحْنُ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ {٣٦}

“Maha Suci (Allah SWT) yang telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri, maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”

Berdasarkan ayat diatas telah jelas disebutkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan berpasang-pasangan. Hal itu ditunjukkan pada lafadz “*Kholaqol azwajah*” yang memiliki arti telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan. Sebagaimana Al-Mahally (2007) dalam buku tafsirnya Tafsir Al-Jalalain dalam lafadz

”*sub-hanallazii khalaqal-azwaja*” menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan makhluk di bumi ini bermacam-macam dengan pasangannya masing-masing, hal tersebut merupakan tanda-tanda kekuasaan dan kebesaran Allah SWT.

Tafsir Al-Misbah menambahkan tidak hanya manusia saja, akan tetapi tumbuhan, hewan bahkan makhluk tak kasat mata juga diciptakan berpasangan (Sihab, 2017). Hal ini berlaku juga pada senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas memiliki pasangan senyawanya yaitu senyawa antioksidan. Adanya senyawa antioksidan akan menyeimbangkan senyawa radikal bebas yang ada di tubuh sehingga tidak akan menimbulkan efek negatif bagi tubuh.

Senyawa antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron. Senyawa tersebut dapat menangkal dampak negatif dari oksidan. Kerja dari antioksidan sendiri adalah dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat reaktif oksidatif. Kemudian senyawa oksidatif tersebut dapat dihambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi dari efek radikal bebas. Dengan adanya antioksidan dapat menghambat atau memperlambat kerusakan yang diakibatkan radikal bebas (Winarti, 2010 dan Sayuti, 2015).

Senyawa fenolik memiliki efek biologis seperti adanya aktivitas antioksidan. Adanya aktivitas antioksidan akan mereduksi, menangkap radikal bebas, dan meredam pembentukan singlet oksigen dan sebagai pendonor elektron. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenolik yang dapat ditemukan dalam buah dan sayur. Selain itu senyawa flavonoid berpotensi dapat menangkap radikal bebas (karadeniz *et al.*, 2015; Farkas *et al.*, 2004; Middleton *et al.*, 2000 dalam Sayuti, 2015).

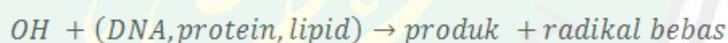
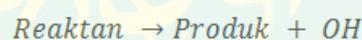
Beberapa senyawa antioksidan yang ada di tumbuhan antara lain vitamin A, vitamin E, vitamin C, vitamin B2, karoten (prekursor vitamin A), selenium, golongan senyawa

flavonoid seperti Antosianin dan Isoflavon, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional (Sukandar, 2013 dan Sayuti, 2015).

Sumber flavonoid antara lain kacang-kacangan, sayur-sayuran, buah-buahan, coklat dan teh. Selain itu flavonoid juga tersedia dalam bentuk suplemen baik dalam bentuk serbuk, kapsul atau ekstrak. Senyawa fitokimia yang ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan akan membuat tubuh lebih kuat dan sehat. Aktivitas antioksidan di dalam tanaman diperkirakan mempunyai kemampuan sedang hingga tinggi dalam menangkal radikal bebas (Sayuti, 2015 dan Khaira, 2010).

Antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu dibanding dengan molekul lain. Hal ini dikarenakan antioksidan yang bersifat mudah teroksidasi. Kefektifan antioksidan bergantung pada seberapa kuat daya oksidasinya jika dibandingkan dengan molekul yang lain. Semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut. Berikut reaksi yang terjadi apabila tanpa antioksidan dan adanya antioksidan menurut Khaira (2010).

Reaksi tanpa antioksidan



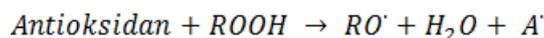
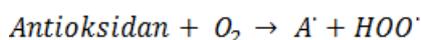
Radikal bebas lainnya akan memulai reaksi yang sama dengan molekul lainnya.

Reaksi dengan antioksidan



Pazil (2009) menambahkan bahwa besarnya konsentrasi antioksidan dapat mempengaruhi laju reaksi oksidasi. Pada konsentrasi antioksidan tinggi, aktivitas antioksidan dari group fenol akan hilang, bahkan antioksidan berubah menjadi prooksidan. Terdapat faktor yang mempengaruhi jumlah konsentrasi dari laju reaksi oksidasi antara lain struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang diuji (Gordon, 1990).

Berikut reaksi kimia dari antioksidan yang bertindak sebagai prooksidan menurut Gordon (1997).

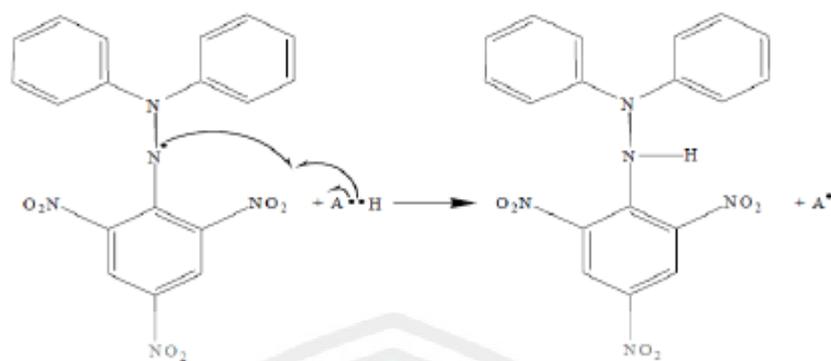


(radikal antioksidan)

Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan sendiri secara alami. Akan tetapi jika senyawa antioksidan tersebut tidak mampu menangkal radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, akan membentuk penyakit yang tidak diinginkan. Kelebihan senyawa radikal bebas dapat menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Namun, kereaktifan senyawa radikal bebas dapat dihambat dengan 3 cara yaitu (1) menghambat pembentukan radikal bebas yang baru, (2) menangkap radikal bebas dan memotong pemutus rantai, (3) memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarti, 2010).

Supaya dapat mengetahui sebuah tanaman mempunyai aktivitas antioksidan maka diperlukan pengujian aktivitas antioksidan. Menurut Sayuti (2015) salah satu metode yang sering digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode uji 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Keuntungan dari metode DPPH adalah sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen.

Radikal bebas DPPH memiliki elektron yang tidak berpasangan yang memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimal di panjang gelombang 517 nm. Larutan DPPH akan berubah menjadi warna kuning ketika larutan DPPH berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Peningkatan diskolorisasi mengindikasikan meningkatnya kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas (Prakash, 2001). Berikut reaksi radikal DPPH dengan antioksidan.



Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Windono *et al.*, 2001)

Aktivitas penangkapan radikal bebas dinyatakan dengan bentuk %, yang diperoleh dari rumus (Sayuti, 2015) :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

Berdasarkan rumus diatas, semakin besar tingkat diskolorisasinya (jika absorbansinya semakin kecil) maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal bebasnya dan dilanjutkan dengan penghitungan IC_{50} . *Inhibition concentration* (IC_{50}) merupakan nilai yang menggambarkan konsentrasi suatu zat antioksidan dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya. Nilai IC_{50} diketahui melalui persamaan garis linier regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (X) dan aktivitas penghambatannya (Y). Semakin kecil nilai IC_{50} nya maka sampel uji memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang lebih baik (Ahmad, 2015).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan senyawa kimia diantara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Pemisahan senyawa kimia ini didasarkan perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara fasa (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorban) yang kepolarannya berbeda tingkatan

(Kartasubrata, 1987 dan Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip kerja dari teknik ini adalah adanya perbedaan sifat senyawa baik sifat fisik dan sifat kimianya antara lain molekul memiliki sifat kecenderungan mudah larut, mudah menguap dan mudah melekat pada permukaan (adsorpsi, penjerapan). Selain keuntungan prinsip kerja yang didapat ketika menggunakan teknik ini, keuntungan lain adalah teknik tersebut murah, sederhana, dapat menganalisis beberapa komponen secara serempak, memerlukan sampel yang jumlahnya relatif kecil, waktunya singkat (15-60 menit) dan tidak membutuhkan peralatan yang banyak (Hendayana, 2006 dan Hernani, 1999).

Menurut Gritter *et al.* (1991) dan Rahman (2009) Kromatografi lapis tipis (KLT) melibatkan dua fasa, yaitu fasa diam atau sifat lapisan dan fasa gerak atau campuran pelarut pengembang. Fasa diam merupakan senyawa yang menahan gerakan sampel yang dibawa oleh fasa gerak. Fasa diam memiliki kepolaran yang sesuai dengan komponen yang dipisahkan. Sedangkan fasa gerak merupakan pelarut organik dengan perbandingan yang telah ditentukan dengan tujuan untuk megubah kepolarannya, selain itu juga digunakan untuk mengikat komponen yang ada dicampuran yang akan dipisahkan.

Pemisahan senyawa dalam fasa diam dapat menggunakan plat silika gel F₂₅₄ yang diaktivasi terlebih dahulu di suhu 100°C selama 30 menit, yang bertujuan untuk menghilangkan air dalam fase penjerapan. Sehingga pelarut dalam gel keluar meninggalkan matriks berpori untuk menarik larutan pengembang yang mempunyai efek kapiler (Sastrohamidjojo, 2007 dan Wonorahardjo, 2013).

Menurut Alen dkk. (2017) menyatakan pemisahan menggunakan metode KLT harus dilakukan beberapa kali menggunakan beberapa pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda, untuk mendapat pemisahan yang optimal. Bercak yang diperoleh kemudian dimonitor dengan UV 254 nm dan 365 nm. Penentuan golongan senyawa kimia

dilakukan dengan menyemprot plat KLT dengan beberapa pereaksi diantaranya alkaloid menggunakan pereaksi *Dragendorff's reagent*, fenol dan tannin menggunakan pereaksi FeCl_3 , terpenoid menggunakan Vanilin dan Flavonoid menggunakan pereaksi Asam Sulfat.

Hasil dari teknik KLT ini diketahui dengan nilai *retardation factor* (*rf*). Nilai *rf* merupakan perbandingan jarak antara yang ditempuh pelarut komponen sampel. Nilai *rf* akan menunjukkan perbedaan sifat senyawa yang digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa tersebut. Dua senyawa dikatakan sama, jika mempunyai nilai *rf* yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama pula (Rahman, 2009 dan Gandjar & Rahman, 2007). Nilai *rf* dapat diketahui dengan menggunakan rumus (Sastrohamidjojo, 1991) :

$$rf = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga *rf* berjangka antara 0,00-1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Harga *rf* dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan.

Menurut Milasari (2006) beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai *rf* antara lain pelarut, jenis dan ketebalan bahan penyerap, suhu, kejenuhan ruangan akan pelarut, kelembaban udara, konsentrasi sampel, panjang trayeksi migrasi, senyawa asing dan pencemaran pelarut.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif. Data diperoleh dari hasil uji senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Uji aktivitas antioksidan jamur endofit dilakukan dengan menggunakan larutan DPPH, kemudian dihitung persentase penghambatannya. Setelah itu dilanjutkan perhitungan IC_{50} untuk menggambarkan kemampuan ekstrak uji dalam menangkal radikal bebas. Identifikasi golongan senyawa aktif metabolit sekunder dari jamur endofit biji juwet menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari 2018 – Januari 2019 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika dan Riset Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri, *beaker glass* 500 ml, *Laminar Air Flo* (LAF), oven, silet, autoklaf, gelas ukur 100 ml, bunsen, hot plate, kompor gas, blue tip, mikropipet, shaker, timbangan analitik, erlenmeyer 250 ml, rotari evaporator, spektrofotometer, kuvet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, alu, mortar dan *water bath shaker*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain isolat jamur endofit biji juwet koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang, biji juwet, akuades, streptomisin, alumunium foil, plastik wrap, alkohol 70%, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media PDB (*Potato Dextrose Broth*), kertas saring halus, metanol p.a, DPPH, asam askorbat, spirtus, kapas, kasa, n-heksan, etil asetat, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄, reagen larutan FeCl₃.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dilakukan dengan membungkus semua alat gelas dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik. Untuk sterilisasi media pertumbuhan juga di tuangkan ke dalam erlenmeyer dan dimasukkan ke dalam plastik. Penyeterilan alat dan bahan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*).

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 Media PDA

Media PDA merupakan media yang umum digunakan untuk kultur jamur. Media PDA terdiri dari kentang 200 g, *dextrose* 20 g, dan Agar 20 g (Sharma, 2010). Langkah pertama untuk membuat media PDA adalah ditimbang PDA sebanyak 20 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1000 ml, setelah itu ditambahkan 600 ml akuades dipanaskan di hotplate sambil diaduk dengan stirer sampai media homogen dan berwarna bening. Media yang sudah mendidih selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

3.4.2.2 Media PDB

Media PDB dalam penelitian ini digunakan untuk media fermentasi. Media PDB mempunyai komposisi antara lain kentang 200 g dan *dextrose* 20 g (Nwogu, 2012). Ditimbang media PDB sebanyak 12 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Ditambahkan 500 ml akuades dipanaskan sampai bening dan mendidih di hotplate, sambil diaduk dengan stirer. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

3.4.3 Peremajaan Jamur Endofit

Kegiatan peremajaan bertujuan memperoleh isolat jamur yang segar. Media yang digunakan dalam pemurnian media PDA. Jamur yang telah tumbuh tersebut, dipotong dengan ukuran 1x1 cm kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi media PDA baru.

3.4.4 Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit

Kurva pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui fase stasioner dari jamur endofit. Kurva pertumbuhan jamur endofit dilakukan dengan menggunakan media PDB sebagai sumber nutrisinya. Metode kurva pertumbuhan jamur endofit menggunakan metode dari Srikandace *et al* (2007), Andhikawati *et al* (2014) dan Rendowati *et al* (2017). Isolat jamur endofit yang telah berumur 7 hari diambil dengan jarum ose dan dipindahkan ke dalam botol flakon yang berisi media PDB 10 mL, kemudian digojog dengan kecepatan 130 rpm suhu ruang selama 14 hari. Miselia jamur endofit disaring menggunakan kertas saring halus dan dikeringkan dengan oven disuhu 50°C selama 1x24 jam. Fase stasioner jamur endofit ditentukan berdasarkan berdasarkan bobot kering biomassa. Pengukuran bobot kering biomassa dilakukan setiap hari, bobot kering biomassa ditentukan dengan menghitung selisih berat kertas saring kosong dengan kertas saring berisi miselia.

3.4.5 Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit sekunder

Fermentasi jamur endofit dilakukan dengan menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Borth*). Tujuannya adalah untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari jamur endofit biji juwet. Isolat jamur endofit yang dipakai adalah isolat jamur endofit yang telah diketahui kurva pertumbuhannya pada fase stasioner. Isolat jamur kemudian dipotong sebanyak 3 potong dengan ukuran $\pm 1 \times 1$ cm. Fermentasi jamur endofit menggunakan metode yang digunakan Hipol *et al.* (2014). Jamur endofit yang telah dipotong dadu dipindahkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml media PDB. Kultur dipanen berdasarkan kurva pertumbuhan masing-masing jamur endofit dengan menggunakan shaker dengan kecepatan 100 rpm dalam suhu ruang.

Setelah dilakukan fermentasi, kemudian dilakukan pengekstrakkan metabolit sekunder. Metode ekstraksi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder menggunakan metode yang digunakan oleh Septiawan (2014). Metabolit sekunder jamur endofit didapat dari ekstraksi biomassa, dilakukan pemisahan antar media PDB dengan miselia menggunakan kertas saring halus untuk mendapatkan metabolit sekunder. Miselia kapang kemudian dihaluskan sampai halus dengan mortar, kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 100 mL dan di shaker selama 24 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk diambil filtratnya dan miselia yang telah disaring diberi metanol baru (dilakukan 3 kali).

3.4.6 Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dengan KLT

Analisis golongan metabolit sekunder menggunakan metode yang digunakan oleh Milasari (2007) dan Fuadati (2015) dengan menggunakan miselia yang telah diekstraksi dengan metanol. Ekstrak metanol dari miselia kemudian dilarutkan dengan n-heksan:etil asetat (4:1). Bila noda terbentuk tailling (berekor) maka sampel yang telah ditotolkan terlalu pekat dan perlu diencerkan kembali. Kemudian plat KLT dilihat dibawah sinar

UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dihitung nilai *rf* berdasarkan rumus dari Sherma & Fried (2003) :

$$rf = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

Keterangan :

rf = retardation factor

Nilai *rf* dari sampel ekstrak jamur endofit yang telah diketahui kemudian dibandingkan dengan nilai *rf* dari literatur.

3.4.7 Uji Antioksidan

Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH, metode uji antioksidan menggunakan larutan DPPH tersebut berdasarkan Dompeipen (2015). Ditimbang 19.75 mg DPPH yang dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 50ml kemudian disimpan dibotol gelap. Dipipet 1mL larutan DPPH 1mM ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda dan dihomogenkan. Larutan tersebut digunakan untuk kontrol. Ditimbang 5 mg sampel kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a (sebagai larutan induk). Sebanyak 50, 100, 250, 500 dan 1000 µL larutan induk dipipet ke tabung reaksi yang telah ditera 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 µg/mL. Kemudian ditambah 1 mL DPPH 1 mM ke dalam masing-masing tabung dan ditambahkan metanol p.a sampai 5 mL dan dihomogenkan. Asam askorbat (vit. C) digunakan untuk larutan standart. Ditimbang vitamin C sebanyak 3 mg dan dilarutkan dengan menggunakan metanol p.a hingga 5 mL. Kemudian dipipet sebanyak 50, 100, 150, 200, dan 250 µL dan dimasukkan ke dalam labu terukur 5 ml dan ditambah 1mL larutan DPPH 1mM kemudian diperoleh konsentrasi larutan standar 3, 6, 9, 12 dan 15 µg/mL.

Larutan uji diinkubasi selama 30 menit disuhu 37°C. Untuk pembacaan gelombang digunakan panjang gelombang 517 nm. Hal ini dikarenakan larutan DPPH yang berwarna ungu tua tampak pada panjang gelombang maksimal 517 nm (Day, 1998). Presentase inhibisi dihitung dengan persamaan (Sayuti, 2015) :

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan :

A_0 = Absorbansi blanko

A_1 = Absorbansi sampel

Selanjutnya setelah memperoleh nilai persen absorbansinya ditentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah nilai konsentrasi antioksidan ($\mu\text{g/mL}$) yang dapat mengambat 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} ditentukan dengan persamaan kurva yang mana sumbu y merupakan persentase inhibisi dan sumbu x merupakan konsentrasi antioksidan (Molyneux, 2004). Persamaan kurva akan menghasilkan persamaan garis linier $y = ax+b$ (Filbert, 2014). Semakin kecil nilai IC_{50} , sampel dikatakan memiliki antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 μg , sedang apabila nilai IC_{50} 100-150 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar dari 150-200 $\mu\text{g/mL}$ (Arditiana *et al*, 2015).

3.5 Analisis Data

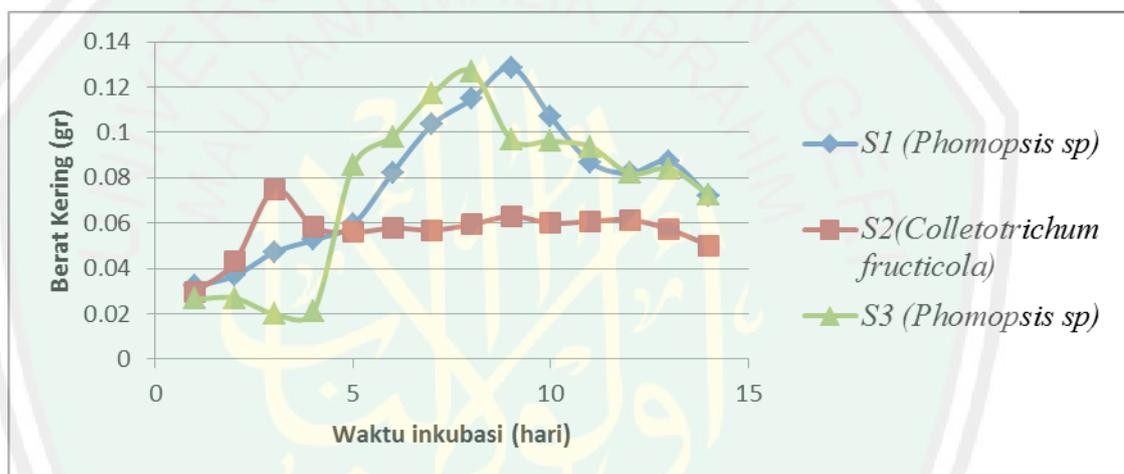
Analisis data dari uji antioksidan dilakukan dengan menghitung persentase aktivitas antioksidan ekstrak kasar jamur endofit, biji juwet dan asam askorbat. Dilanjutkan dengan menghitung nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y). Dari persamaan regresi tersebut akan membentuk rumus $y=ax+b$.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Jamur endofit Biji Juwet

4.1.1 Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)

Metabolit sekunder yang diperlukan pada uji diperoleh berdasarkan fase pertumbuhan jamur endofit. Fase pertumbuhan dapat diamati dalam bentuk kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan tiga isolat jamur endofit biji juwet menunjukkan fase pertumbuhan pada waktu inkubasi yang bervariasi (Gambar 4.1).



Gambar 4. 1 Kurva pertumbuhan jamur endofit biji juwet S1 (*Phomopsis sp.*), S2 (*Colletotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis sp.*)

Waktu optimum produksi metabolit sekunder ditentukan dengan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan jamur endofit dapat menunjukkan fase-fase pertumbuhannya selama dalam media (Rusli dkk, 2017). Waktu optimum untuk produksi metabolit sekunder adalah pada fase stasioner (Khoiriyah, 2014).

Kurva pertumbuhan terdiri dari 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Berdasarkan fase-fase tersebut fase lag pada jamur endofit S1 (*Phomopsis sp.*) tidak terlihat, jamur endofit S1 (*Phomopsis sp.*) dari hari ke-1 sampai

dengan hari ke-9 mengalami fase eksponensial yang kemudian dilanjutkan dengan fase kematian pada hari ke-10 dan tidak terlihatnya fase stasioner setelah fase eksponensial.

Jamur endofit S2 (*Colletotrichum fructicola*) dimasa pertumbuhannya fase lag tidak teramati. Jamur endofit S2 (*Colletotrichum fructicola*) langsung mengalami fase eksponensial pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-3 dan dilanjutkan fase stasioner dari hari ke-4 sampai dengan hari ke-11. Fase kematian pada jamur endofit S2 (*Colletotrichum fructicola*) dimulai pada hari ke-12. Jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.) menunjukkan fase lag dihari ke 1 sampai hari ke-4, kemudian hari ke-5 sampai hari ke-7 berada difase eksponensial dimana pertumbuhan jamur sangat cepat, dilanjutkan dengan fase kematian pada hari ke-8 ditunjukkan dengan turunnya kurva.

Berdasarkan kurva pertumbuhan masing-masing isolat jamur endofit memiliki waktu optimum yang berbeda-beda yaitu jamur S1 (*Phomopsis* sp.) tidak teramati, jamur S2 (*Colletotrichum fructicola*) pada hari ke-4 sampai dengan hari ke-11 dan jamur S3 (*Phomopsis* sp.) tidak teramati. Tidak teramatinya beberapa fase pertumbuhan jamur pada penelitian ini diduga karena kecepatan pertumbuhan masing-masing jamur berbeda, sehingga fase-fase yang tidak teramati tidak sampai 1x24 jam.

Pengambilan waktu optimum produksi metabolit sekunder berada pada akhir fase stasioner diduga karena pada fase stasioner populasi selnya tetap, jumlah sel yang tumbuh sama dengan sel yang mati, selain itu pada fase ini nutrisi yang terdapat pada media tumbuh mulai berkurang sehingga jamur akan mensintesis metabolit sekunder. Sebagaimana menurut Pratiwi (2008) dan Srikandace (2007) terjadinya sintesis metabolit sekunder disebabkan oleh habisnya beberapa gizi pada media pertumbuhan. Berkurangnya zat gizi tersebut akan menyebabkan terlepasnya zat-zat hasil proses katabolisme yang merupakan metabolit sekunder.

Gonzalez *et al.* (2003) dan Ruiz, *et al.* (2010) menambahkan metabolit sekunder tidak diproduksi selama fase pertumbuhan selnya cepat (tropofase), biasanya sintesis metabolit sekunder terjadi selama fase pertumbuhan akhir (idiofase). Produksi metabolit sekunder dimulai ketika terbatasnya salah satu sumber nutrisi antara lain karbon, nitrogen atau fosfat pada media pertumbuhannya. Selain itu, pada fase ini diduga jamur akan lebih tahan terhadap keadaan ekstrem, seperti terhadap radiasi bahan kimia, suhu (lebih panas atau 1°C lebih dingin) dan terhadap metabolit sekundernya sendiri (Srikandace, 2007).

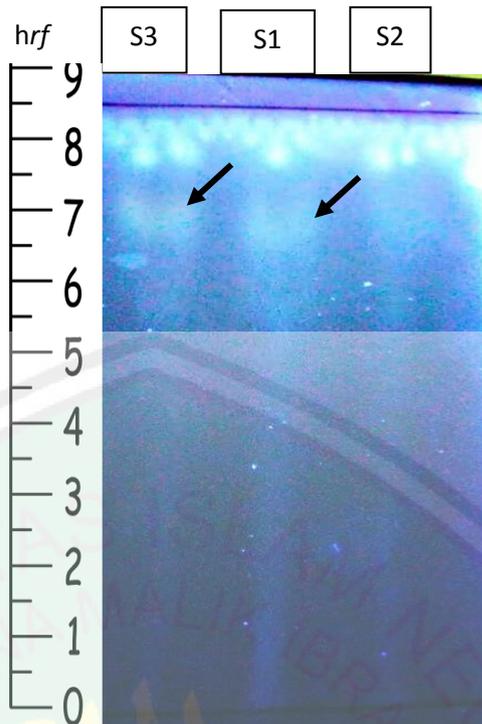
4.1.2 Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Jamur Endofit Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L) Skeels.)

Uji Fitokimia yang digunakan untuk identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak jamur endofit biji juwet adalah dengan menggunakan metode kromatogram lapis tipis (KLT). Nilai *rf* jamur endofit biji juwet yang diperoleh dari penelitian ini setiap ekstrak jamurnya berbeda. Hasil dari penelitian ini disajikan dalam tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Hasil nilai *rf* dari uji KLT jamur endofit biji juwet

Sampel	Nilai <i>rf</i>
S1 (<i>Phomopsis</i> sp.)	0,71
S2 (<i>Collectotricum fructicola</i>)	-
S3 (<i>Phomopsis</i> sp.)	0,82

Berdasarkan hasil penelitian ini pada sinar tampak tidak terdapat warna diplat KLT, sedangkan warna terlihat abu-abu kekuningan untuk ekstrak jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.) dan abu-abu untuk ekstrak S3 (*Phomopsis* sp.) pada saat plat KLT berada dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm (gambar 4.2). Tabel 4.1 menunjukkan nilai dari *rf* pada masing-masing sampel ekstrak jamur endofit berbeda-beda. Ekstrak jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.) memiliki *hrf* 6,9 dan ekstrak jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.) memiliki *hrf* 6,8.



Gambar 4. 2 Identifikasi golongan senyawa Gambar hasil KLT dengan panjang gelombang UV 365 nm. S3 (*Phomopsis* sp.), S1 (*Phomopsis* sp.) dan S2 (*Colletotrichum fructicola*). Adanya senyawa metabolit sekunder ditunjukkan oleh tanda panah hitam

Ekstrak jamur S2 (*Collectotrichum fructicola*) pada penelitian ini tidak terbentuk bercak dengan warna baik dilihat dari sinar tampak maupun dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm. Sehingga dengan tidak terbentuknya warna pada plat KLT, maka nilai *rf* pada ekstrak jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*) tidak ditemukan. Hal tersebut terjadi kemungkinan karena eluen yang digunakan tidak tepat atau perbandingan eluen yang kurang tepat sehingga memungkinkan tidak tertariknya metabolit sekunder pada ekstrak jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*).

Menurut Kartikawati (2016) menyatakan bahwa komposisi eluen merupakan faktor yang dapat memengaruhi proses pemisahan pada KLT, sehingga perlu adanya proses optimasi komposisi eluen. Selain komposisi eluen faktor lain yang memengaruhi harga *rf* antara lain: tebal lapisan penyerapan, kadar air, jenis eluen, suhu, tingkat kejenuhan bejana oleh uap eluen dan ukuran partikelnya (Octavia, 2009).

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diidentifikasi bahwa golongan senyawa yang muncul pada plat KLT adalah dari golongan senyawa tanin. Hal ini diketahui dengan adanya warna spot pada plat KLT berwarna keabu-abu. Pada penelitian ini metode deteksi bercak menggunakan cara fisika. Cara fisika ini menggunakan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet.

Deteksi bercak KLT dapat dilakukan dengan menggunakan sinar tampak atau dapat juga menggunakan bantuan sinar UV. Deteksi bercak KLT dengan cara fisika merupakan cara deteksi paling sederhana. Hal ini ditunjukkan ketika senyawa menunjukkan penyerapan pada daerah UV gelombang pendek (radiasi utama pada kira-kira 254 nm) atau jika senyawa dapat dieksitasi ke fluoresensi radiasi uv gelombang pendek atau pun gelombang panjang (365 nm) (Wulandari, 2011 dan Stahl, 1985).

Beberapa senyawa mampu menyerap sinar UV atau sinar tampak atau fluoresensi, akan tetapi beberapa senyawa membutuhkan deteksi bercak yang tepat. Deteksi bercak dapat dilakukan dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas (cara kimia). Seringkali, deteksi bercak KLT dapat dideteksi dengan mengkombinasikan cara-cara diatas. Deteksi bercak secara fisika yang mungkin dilakukan terlebih dahulu yang diikuti dengan penyemprotan suatu pereaksi. Adanya penyemprotan suatu pereaksi digunakan untuk meningkatkan selektivitas dan sensitivitas (Wulandari, 2011 dan Gandjar & Rohman, 2007)

Hasil nilai rf dapat dilihat ada tabel 4.1 nilai rf isolat S1 (*Phomopsis* sp.) adalah 0,71 dan isolat S3 (*Phomopsis* sp.) adalah 0,82. Nilai rf pada kedua isolat tersebut bukan nilai rf asam elagik karena asam elagik memiliki nilai rf berkisar antara 0,35-0,38, sehingga dimungkinkan nilai rf kedua isolat merupakan senyawa lain golongan tanin (Veni *et al.*, 2012; Fakhri *et al.*, 2014; Sutar & Pal, 2015). Selain asam elagik terdapat pula senyawa asam galik yang termasuk dalam golongan senyawa tanin dan mempunyai kemampuan

menangkal radikal bebas (Hernawan & Setyawan, 2003 dan Priya, 2017). Asam galik memiliki nilai *rf* berkisar antara 0,43-0,44 (Fakhri *et al.*, 2014 dan Sutar & Pal, 2015).

Berdasarkan nilai *rf* (tabel 4.1) yang ditemukan pada penelitian ini diduga merupakan nilai *rf* dari senyawa asam tanat. Nilai *rf* senyawa asam tanat berkisar antara 0,71-0,85 (Sharma *et al.*, 2013 dan Gupta, 2014). Asam tanat juga termasuk golongan senyawa tanin yang memiliki peran sebagai senyawa antioksidan. Selain memiliki efek sebagai antioksidan, asam tanat juga memiliki efek sebagai antimutagen, antibakteri dan antienzimatik (Puspita, 2010).

Menurut Senthilkumar *et al.* (2017) dan Anjali *et al.* (2017) menyatakan bahwa tanaman juwet kaya akan kandungan antosianin, Asam elagik, isokuersetin, kaemferol dan miresetin. Kandungan fitokimia pada biji juwet antara lain alkaloid, jambosin, glikosida jambolin atau antimelin, saponin, terpenoid, flavonoid, tanin dan steroid. Selain itu biji juwet juga memiliki kandungan polifenol yang tinggi. Senyawa polifenol yang terdapat dalam biji juwet antara lain asam galik, asam elagik, asam kafeat, asam *p*-kumarik, katekin, epikatekin dan kuersetin (Balyan & Sarkar, 2017).

Selaras dengan penelitian ini, terdapat salah satu yang secara eksplisit memerintahkan manusia untuk memperhatikan ciptaan-Nya. ayat tersebut adalah Al-Quran Surah Al-An'am: 99, yang berbunyi:

أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ { ٩٩ }

Artinya : ... Perhatikanlah buahnya diwaktu pohonya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang yang beriman.

Terkait penggalan ayat tersebut Al-Quran tidak hanya membatasi pada pohon yang berbuah dan kematangannya, melainkan juga mengandung unsur perintah dalam lafadz “*unzhuruu*”. Lafadz tersebut dapat dijabarkan bahwa Allah SWT tidak hanya

memerintahkan umat muslim untuk memperhatikan tumbuhan saja, akan tetapi semua yang telah diciptakan-Nya. Menurut Al-Qarni (2007) dalam tafsirnya Al-Muyyasar penggalan ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah memerintahkan umat manusia untuk melihat apa yang ada disekitarnya, dalam hal ini adalah untuk melihat pohon yang berbuah dan proses kematangannya. Adanya hal tersebut, terdapat petunjuk tentang kesempurnaan kekuasaan Dzat penciptanya, hikmah dan rahmat-Nya untuk kaum yang beriman kepada-Nya.

Shihab (2017) mempertegas pada bagian akhir ayat tersebut disebutkan ”*Unzhuruu ila tsamarihi idza atsamara wa yan'ih*” yang bermakna amatilah buah-buahan yang dihasilkannya. Lafadz tersebut mengandung perintah untuk mendorong perkembangan ilmu Botani yang sampai saat ini mengandalkan metode pengamatan bentuk luar seluruh organnya dalam semua fase perkembangannya. Akan tetapi tidak hanya memerintahkan pengembangan ilmu botani, secara implisit ayat tersebut memerintahkan untuk mendorong perkembangan bidang ilmu lainnya.

Berkesinambungan dengan ayat Al-Quran Surat Al-An'aam ayat 99 bahwa umat manusia diperintahkan untuk mengamati ciptaan-Nya, maka ditelitilah kandungan-kandungan senyawa pada jamur endofit biji juwet, dengan diketahuinya senyawa yang terdapat dalam jamur endofit maka diketahui pula manfaatnya. Sebagaimana dengan firman Allah SWT dalam Al-Quran surat Luqman ayat 10 :

خَلَقَ السَّمٰوٰتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَّرَوْنَہَا وَاَلْقٰی فِی الْاَرْضِ رَوْسِیَ اَنْ تَمِیْدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِیْہَا مِنْ كُلِّ دَابَّۃٍ وَاَنْزَلْنَا مِنْ السَّمٰوٰتِ مَآءً فَانۡبَتْنَا فِیْہَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ کَرِیْمٍ { ۱۰ }

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan dia meletakkan gunung-gunung (diperukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuhan-tumbuhan yang baik”.

Berdasarkan ayat diatas dijelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai macam makhluk di bumi dengan baik dan dengan manfaatnya masing-masing. Al-Asyqar (2007) dalam tafsirnya Zubadut Tafsir menjelaskan penggalan ayat diatas bahwa Allah SWT menciptakan segala macam jenis tumbuhan dari diturunkannya air hujan, yang kemudian dibuatlah tumbuhan yang baik karena memiliki warna yang indah dan manfaat yang banyak. Al-Mahally (2007) dalam tafsir Jalalayn menjelaskan bahwa Allah menumbuhkan tumbuhan yang baik dari jenis tumbuhan baik juga. Tumbuhan baik ini dapat diumpamakan sebagai jamur endofit yang menghasilkan metabolit sekunder yang baik berdasarkan tempat hidupnya dalam buah juwet.

Allah SWT menciptakan jamur endofit dengan berbagi macam manfaat yang dikandung. Manfaat jamur endofit tidak hanya dirasakan oleh tumbuhan inangnya, akan tetapi dapat dirasakan pula oleh manusia. Hal ini dibuktikan dengan adanya senyawa yang muncul pada penelitian ini. Senyawa yang muncul pada penelitian ini teridentifikasi sebagai senyawa tanin.

4.2 Aktivitas Antioksidan Jamur Endofit Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L) Skeels.)

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH yang kemudian dicek absorbansi senyawa radikal bebasnya menggunakan spektrofotometri. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang padat ataupun cair dan tidak spesifik pada banyak komponen antioksidan, tapi dapat diaplikasikan untuk semua sampel (Prakash, 2001).

Larutan DPPH pada penelitian ini digunakan sebagai radikal bebas yang nantinya akan direaksikan dengan senyawa antioksidan dari ekstrak jamur endofit biji juwet. larutan DPPH berwarna ungu yang jika direaksikan dengan senyawa ekstrak jamur endofit biji juwet akan berwarna kuning. Warna ungu yang telah berubah menjadi kuning

kemudian dicek absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm-517 nm (Molyneux, 2004 dan Prakash, 2001).

Hasil uji sampel antioksidan dari berbagai konsentrasi mengalami perubahan warna dari warna ungu ke warna kuning. Berubahnya warna larutan DPPH setelah ditambahkan dengan sampel jamur endofit diduga karena adanya donor H yang terdapat dalam sampel senyawa uji (lampiran 4.1). Prakash (2001) menambahkan bahwa berubahnya warna dari warna ungu ke warna kuning disebabkan elektron radikal DPPH menjadi berpasangan dengan hidrogen dari aktivitas penangkapan antioksidan terhadap radikal bebas ke bentuk DPPH-H.

Menurut Molyneus (2004) dan Bougateg *et al.* (2010) suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan jika senyawa tersebut mampu memberikan donor atom H yang ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (kuning pucat), dengan berubahnya warna radikal bebas DPPH membentuk senyawa stabil non-radikal yang berwarna kuning. Bertemunya DPPH dengan bahan pendonor atom H menyebabkan DPPH tereduksi dan digantikan warnanya dari warna ungu menjadi warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini, 2016). Perubahan warna tersebut disebabkan menurunnya absorbtivitas dari molekul DPPH karena elektron yang tidak berpasangan, dengan adanya atom H dari antioksidan akan membentuk DPPH-H tereduksi (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Husnah, 2009).

Berubahnya warna DPPH setelah diberi sampel ekstrak jamur endofit biji juwet, kemudian dihitung nilai inhibisi antioksidannya. Nilai inhibisi tersebut nantinya digunakan untuk mengetahui nilai IC50 melalui persamaan regresi non-linier. Nilai IC50 pada masing-masing ekstrak jamur endofit biji juwet pada penelitian ini menunjukkan kekuatan daya aktivitas antioksidan yang berbeda (tabel 4.2).

Tabel 4. 2 Data hasil inhibisi dan IC50 dari uji senyawa antioksidan jamur endofit biji juwet dan asam askorbat

Sampel	konstrasi (ppm)	Inhibisi (%)	Nilai R ²	IC50 (ppm)	Keterangan
S1 (<i>Phomopsis</i> sp.)	25	72,0379147	0,9403	69,99	Kuat
	50	47,1563981			
	100	41,2322275			
	150	24,6445498			
	200	6,87203791			
S2 (<i>C. fructiola</i>)	25	79,2	0,8794	110,10	Sedang
	50	84,8			
	100	75,7333333			
	150	16,8888889			
	200	-22,044444			
S3 (<i>Phomopsis</i> sp.)	25	74,4228994	0,9688	86,22	Kuat
	50	69,0674054			
	100	52,9085873			
	150	13,2040628			
	200	-12,188366			
Asam Askorbat	3	67,76471	0,9883	2.8	Sangat kuat
	6	75,05882			
	9	78,35294			
	12	83,52941			
	15	89,88235			

Data inhibisi diperoleh dari nilai absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer. Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa inhibisi disetiap konsentrasi pada masing-masing ekstrak sampel jamur endofit biji juwet berbeda disetiap konsentrasinya. Akan tetapi pada ekstrak sampel jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) memiliki nilai inhibisi minus (-) pada konsentrasi tinggi. Adanya nilai minus (-) pada ini berarti pada konsentrasi 200ppm tidak terdapat aktivitas penangkapan antioksidan. Hal tersebut sesuai dengan Fadli (2018) yang menyatakan bahwa hasil inhibisi absorbansi DPPH yang mendapatkan nilai minus (-) memiliki arti bahwa senyawa uji tersebut tidak mampu memberikan efek redaman terhadap radikal bebas.

Hasil nilai inhibisi yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan persamaan regresi nonlinier untuk mengetahui ada tidaknya korelasi (hubungan). Menurut Ahmad (2015) menyatakan bahwa analisa menggunakan persamaan regresi linier, persamaan regresi linier dapat menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (X) dengan aktivitas penangkapan rata-rata radikal bebas (Y). Selain itu juga persamaan regresi linier merupakan dasar dari perhitungan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} digunakan untuk mengetahui kategori kekuatan daya aktivitas antioksidan sampel uji.

Hubungan tersebut ditunjukkan dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yang menunjukkan kontribusi variabel X terhadap Y, maka itu berarti X sebagai variabel bebas mempengaruhi Y sebagai variabel terikat sebesar nilai R^2 . Hal dapat dicontohkan pada penelitian ini sampel jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.) memiliki nilai R^2 0,9403, maka itu berarti konsentrasi ekstrak mempengaruhi persen aktivitas antioksidan sebesar 0,9403 disetiap konsentrasinya.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah dengan menghitung IC_{50} yang didapat dari persamaan garis linier. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang memberikan prosentase penangkapan radikal sebanyak 50% dibanding kontrol melalui persamaan garis linier. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka mempunyai keefektifan penangkapan radikal bebas yang sangat baik (Cholisoh 2008).

Berdasarkan hasil pada tabel 4.2 ditunjukkan diketahui bahwa nilai IC_{50} pada setiap sampel berbeda-beda. Ekstrak isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.) dan S3 (*Phomopsis* sp.) memiliki daya aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing 69,99 dan 86,22. Ekstrak isolat jamur S2 (*Colletotrichum fructicola*) memiliki daya antioksidan yang sedang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} 110,10, sedangkan asam askorbat yang digunakan sebagai larutan pembanding memiliki daya antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 2,8. Kategori daya aktivitas antioksidan tersebut sesuai

dengan Jun *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat apabila nilai IC_{50} 51-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} 101-150 ppm, lemah apabila nilai IC_{50} 151-200 ppm dan sangat lemah apabila nilai $IC_{50} > 200$ ppm.

Asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan dengan sampel ekstrak jamur endofit biji juwet (tabel 4.2). Hal tersebut dimungkinkan karena ekstrak sampel masih berupa ekstrak kasar, belum merupakan produk murni, dan asam askorbat pada penelitian ini merupakan antioksidan sintetik sehingga pemakaian dalam konsentrasi kecil sudah dapat untuk mengikat senyawa radikal bebas. Winarti (2007) menambahkan asam askorbat memiliki tingkat kepolaritasan yang tinggi. Hal tersebut disebabkan banyaknya gugus hidroksil yang terkandung dalam asam askorbat yang membuatnya mudah mengikat radikal bebas.

Selain itu, kemungkinan senyawa yang terdapat pada isolat jamur tersebut memiliki sifat baik secara kimia maupun fisik berbeda dengan asam askorbat. Sehingga dengan berbedanya sifat kimia maupun fisiknya maka akan menentukan kuatnya daya aktivitas antioksidan. Berdasarkan hasil identifikasi golongan senyawa pada penelitian ini diduga senyawa yang terdapat pada isolat jamur endofit biji juwet adalah senyawa asam tanat. Golongan tanin diketahui memiliki aktivitas antioksidan, begitu pula asam tanat (Albu, 2009). Jika dilihat dari kelarutannya asam tanat mudah larut dengan alkohol, aseton, benzena, kloroform dan tidak mudah larut dengan air. Hal ini berbanding terbalik dengan asam askorbat yang mudah larut dengan air dan tidak larut dengan eter, kloroform, benzena, minyak dan lemak (Weast, 1979 dan O'Neil, 2006).

Meskipun daya kekuatan antioksidan ekstrak isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructiola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) tidak begitu kuat dibanding dengan asam askorbat, akan tetapi berdasarkan penelitian ini ketiga ekstrak jamur endofit

biji juwet diketahui mempunyai senyawa antioksidan yang dapat menghambat reaksi radikal bebas. Hal ini sesuai dengan Shahnawaz (2015) yang menyatakan bahwa ekstrak biji juwet dengan berbagai cara pengekstrakan memiliki penghambatan antioksidan lebih tinggi dibanding ekstrak buah juwet. Hadirnya senyawa antioksidan yang signifikan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber senyawa antioksidan alami (Nair, 2013; Haroon, 2015 dan Priya, 2017).

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai aktivitas antioksidan ekstrak biji juwet telah berhasil ditemukan. Ekstrak isolat jamur endofit biji juwet diduga menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Sebagaimana dalam Radji (2005) menyatakan bahwa fungi endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini terjadi karena adanya transfer genetik akibat koevolusi antara fungi dan tanaman inangnya.

Berdasarkan hasil dari penelitian ini jamur endofit biji juwet memiliki senyawa metabolit sekunder dimasing-masing isolat. Senyawa tersebut diduga dari senyawa asam tanat dari golongan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini telah dibuktikan pada isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructiola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.) dalam penelitian ini ketiga isolat memiliki aktivitas antioksidan. Sebagaimana dalam firman Allah SWT Surah Adz-Dazriyat:49.

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ {٤٩}

“Dan segala sesuatu **Kami ciptakan berpasang-pasangan** supaya mengingat **kebesaran Allah**”.

Berdasarkan ayat diatas Allah SWT menjelaskan bahwa semua yang diciptakan dalam bumi ini mempunyai pasangan masing-masing. Allah SWT menciptakan segala kejadian dalam bentuk berlainan dan dengan sifat yang berlawanan. Seperti halnya diciptakan-Nya kebahagiaan dan kesengsaraan, petunjuk dan kesesatan, malam dan

siang, surga dan neraka, hidup dan mati, hitam dan putih. Semua diciptakan dengan maksud agar manusia ingat dan sadar untuk mengambil pelajaran dari semuanya.

Al-Mahally (2007) dalam Tafsir Al-Jalalain menerangkan bahwa lafadz *wamin kullisyai-in* (dan segala sesuatu) berkaitan pada lafadz *khalaqnaa* (Kami ciptakan berpasang-pasangan) yakni terdiri dari dua jenis yaitu pria dan wanita, langit dan bumi, ada matahari dan ada bulan, ada dataran rendah dan ada dataran tinggi, ada musim panas dan musim dingin, ada rasa manis dan pahit, ada gelap dan terang. Marwan (2010) dalam Tafsir Hidayatul Insan menjelaskan bahwa ayat tersebut mengingatkan akan nikmat-nikmat yang telah diberikan Allah SWT kepadamu dan menaqdirkan hal itu (menciptakan secara berpasang-pasangan) yang didalam terdapat hikmah Dia menciptakan sesuatu yang menjadi sebab tetap hidupnya (jantan dan betina) agar kamu mengembangbiakkan dan mengurusnya yang kemudian dapat diambil manfaatnya.

Ayat diatas selaras dengan penelitian jamur endofit biji juwet yang terindikasi memiliki senyawa antioksidan. Adanya senyawa antioksidan dalam jamur endofit biji juwet ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan DPPH yang digunakan sebagai senyawa radikal bebas dari ungu menjadi warna kuning. Terjadinya perubahan warna tersebut mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan memiliki pasangan senyawa pada larutan DPPH. Larutan DPPH merupakan radikal bebas yang dapat membahayakan tubuh jika konsentrasi senyawa tersebut banyak dan akan merusak pasangan senyawa lainnya dalam tubuh. Sehingga diperlukannya pasangan senyawa untuk senyawa radikal bebas tersebut yakni senyawa antioksidan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat dua isolat jamur endofit yang diduga memiliki senyawa metabolit sekunder dari golongan senyawa tanin. Isolat-isolat tersebut yaitu *Phomopsis* sp. (S1) dengan nilai rf 0,71 dan *Phomopsis* sp. (S3) dengan nilai rf 0,82. Berdasarkan nilai rf tersebut diduga senyawa metabolit sekunder asam tanat.
2. Isolat-isolat jamur endofit biji juwet memiliki kemampuan aktivitas antioksidan masing-masing. Isolat *Phomopsis* sp. (S1) memiliki kemampuan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 69,99. Isolat *C. Fructiola* (S2) memiliki kemampuan aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} 110,10. Isolat *Phomopsis* sp. (S3) memiliki kemampuan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 86,22.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diatas maka diperlukan adanya penelitian lanjutan. Penelitian lanjutan tersebut antara lain untuk menggunakan berbagai macam eluen pada uji KLT untuk mencari komposisi dan perbandingan eluen yang tepat untuk ekstrak jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.), jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.). Selain itu diperlukan penelitian untuk mengesktrak senyawa antioksidan murni yang terkandung pada jamur endofit biji juwet.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah Bin Muhammad Bin Abdurrahman Bin Ishaq Al-Sheikh. 2004. **Tafsir Ibnu Katsir**. Jilid 6. Penerjemah M. Abdul Ghoffar E.M., Abu Ihasan Al-Atsari. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafii.
- Abdullah Bin Muhammad Bin Abdurrahman Bin Ishaq Al-Sheikh. 2004. **Tafsir Ibnu Katsir**. Jilid 7. Penerjemah M. Abdul Ghoffar E.M., Abu Ihasan Al-Atsari. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafii.
- Ahmad, Mujahidin. 2015. Skrining Aktivitas Antioksidan Jamu Subur Kandungan Komersial. *El-Hayah*. Vol. 5. No. 2.
- Al-Asyqar, Muhammad Sulaiman. 2007. *Kitab Zubdatut Tafsir min Fath Al-Qadir*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Albu, M.D., Mihaela, V.G., Maria G., Viorica T., Lacramioara P. dan Cosmin C. 2009. Spectral Characteristics and Antioxidant Properties of Tannic Acid Immobilized on Collagen Drug-Delivery Systems. *REV. CHIM*. Vol. 60. No. 7.
- Alen, Yohanes., Fitria L. A. dan Yori Y. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Kimia*. Vol. 3. No. 2: 146-152.
- Alif. 2010. Minyak kelapa Murni Menghalau Penyakit Akibat Radikal Bebas. (<http://www.minyak-kelapa.com>. Diakses 13 Januari 2018).
- Al-Mahally, Imam Jalaluddin dan As-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Terjemahan Bahrum Abu Bakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qarni, A. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Anधिकawati, A., Y. Oktavia, B. Ibrahim dan K. Tarman. 2014. Isolasi dan Penapisan Kapang Laut Endofit Penghasil Selulase. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 6. No. 1.
- Anjali, V., G. Sindhu dan C. Girish. 2017. A Review on Pharmacology and Phytochemistry of *Syzygium cumini*. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. Vol. 5. No. 4.
- Aqil, F., Gupta A., Munagala R., Jeyabalan J., Kausar H., Sharma RJ., Singh IP. dan Gupta RC. 2012. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Anthocyanin/Ellagitannin-enriched Extracts from *Syzygium cumini* L. ('Jamun', the Indian Blackberry). *NIH Public Access*. Vol. 64. No. 3.
- Arditiana, A., Nia R., Puruhito W., Renny D. P. dan Tri D. W. 2015. Suplemen Cincau dan Daun Bungur untuk Kolesterol Hipertensi dan Diabetes. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3. No. 1.
- Ayyanar, Muniappan and Pnadurangan Subash-Babu. 2012. *Syzygium cumini* (L). Skeels: A Review of its Phytochemical Constituents and Traditional Uses. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. No. 2. Vol. 3.
- Bahorun, T., MA Soobrattee, V Luximon-Ramma dan OI Aruoma. 2006. Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease. *Internet Journal of Medical Update*. Vol. 1. No. 2
- Baliga, Manjeshwar S. B., Harshith P. B., Bantwal R. V. W. dan Rajesh. 2011. Phytochemistry, Tradisional Uses and Pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (Black Plum): A Review. Elsevier Ltd. *Food Research International*. 44: 1776-1789.

- Bougatef, N., N. Nedjar-Arroume, L. Manni, R. Ravallec, A. Barkia, D. Guillochon dan M. Nasri. 2010. Purification and Identification of Novel Antioxidant Peptides from Enzymatic Hydrolysates of Sardinelle (*Sardinella aurita*) by Products Protein. *Food Chem.*
- Chaudhary, B. Dan Mukhopadhyay, K. 2012. *Syzigium cumini* (L) Skeels: A Potential Source of Nutraceuticals. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. Vol. 2. No. 1:46-53.
- Cholisoh, Z. Dan Utami W., 2008. Aktifitas Penangkapan Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacon*. Vol. 9. No. 1.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Day, J. Underword. 1998. *Analisis Kimia Kualitatif*. Jakarta : Erlangga.
- Dompeipen, J. E., dan Partomuan, S. 2015. Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Kapang Endofit dari Tanaman Mahoni (*Swietenia macrophylla* King). *Biopropal Industri*. Vol. 6. No. 1:7-17.
- Elfita, Muharni, Munawar dan Rizki. 2012. Isolation of Antioxidant Compound from Endophytic Fungi *Acremonium sp.* from the Twigs of Kandis Gajah. *Makara Journal of Science*. Vol. 16. No. 1: 46-50.
- Fakhri, E., Petroczi, A. dan Naughton, D. P. 2014. Assessing the Effecacies of Phenolic Compounds in Pomegrade Juice Using Thin Layer Chromatography. *Acta Chromatographica*. Vol. 26. No. 3.
- Filbert, Harry S. J. K., Max R. J. R., Vanda S. K. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀ Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE*. Vol. 3. No. 2.
- Fuadati, Choirul. 2015. **Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi sebagai Senyawa Antibakteri**. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Rahman, Abdul. 2007. **Kimia Farmasi Analisis**. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gonzalez, J. Barrios, F. J. Fernandez dan A. Tomasini. 2003. Microbial Secondary Metabolites Production and Strain Improvement. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol. 2.
- Gordon. 1990. *The Mechanism of Antioxidant action in vitro*. In: *BJF Hudson. Food Antioxidant*. London: Elsevier Applied Science.
- Gritter, R. J. dan Robbit M. Schwarting S.E. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Haniah, Miftachul. 2008. **Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans***. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.

- Hanin, N. A. dan P. D. Fitriyari. 2019. Identification of Endophytic Fungi from Fruits and Seeds of Jambolana (*Syzygium cumini* L.) Skeels. *International Conference on Life Sciences and Technology*.
- Haroon, R., Jelani, S., Arshad, F. K. 2015. Comparative Analysis of Antioxidant Profiles of Bark, Leaves, and Seeds of *Syzygium cumini* (Indian Blackberry). *IJGR*. Vol. 3.
- Hartati, S., Suparno, Santoso, U. dan Marsono, Y. 2017. Antioxidants Activity and in vitro Inhibition Human Plasma LDL Oxidation of Deffated Rice bran var. Menthikwangi Extract. *International Food Research Journal*. Vol. 24. No 4.
- Hendayana, S. 2006. **Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern**. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hernani. 1999. *Teknik Identifikasi Bahan Aktif pada Tumbuhan Obat*. Makalah Seminar Pendalaman Materi di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor.
- Hernawan, U. Eko dan Setyawan, A. Dwi. 2003. Review: Ellagitanin; Biosintesis, Isolasi dan Aktivitas Biologi. *Biofarmasi*. Vol. 1. No. 1.
- Hipol, R. M., Liezel M. M., Sigrid M. A. T. dan Amor M. D. 2014. Antioxidant Activities of Fungal Endophtes Isolated from Strawberry *Fragaria x ananassa* Fruit. *Electronic Journal of Bioloy*. Vol. 10. No. 4: 107-112.
- Husnah, M. 2009. **Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton). Berdasarkan Variasi Pelarut**. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Jalgaonwala, R.E. *et al.* 2011. A Review: Natural Products from Plant Associated Endophytic Fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnoligy Research*. Vol. 1. No. 1.
- Jun, Yu, J., Fong, X., Wan, C. S. dan Yang, C. T. 2011. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata* Ohwl). *Journal Food Science*. Vol. 68. No. 6.
- Kanti, A. 2005. *Actinomycetes* Selulolitik dari Tanah Hutan Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi. *Biodiversitas*. Vol. 6. 85-89.
- Kartasubrata, Y. 1987. **Dasar-Dasar Kromatografi. Makalah Kursus Metode Analis Instrumental**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Kimia Terapan. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bandung.
- Kartikawati, Linda. 2016. **Metode Kromatografi Tipis-Desintometri untuk Penentuan Kadar Nikotin pada Batang Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.)**. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Skripsi.
- Khaira, Kuntum. 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. *Jurnal Sainstek*. Vol. 2. No. 2: 183-187.
- Khoiriyah, H. dan P. Ardiningsih. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED₄. *JKK*. Vol. 3. No. 4.
- Kumar. R., Ramamurthy. V. V., Sharma, G. 2012. Checklist of Insect Associated with Jamun (*Syzygium cumini* Skeels) from India. *Biological Forum An International Journal*. Vol. 2. No. 1:1-5.

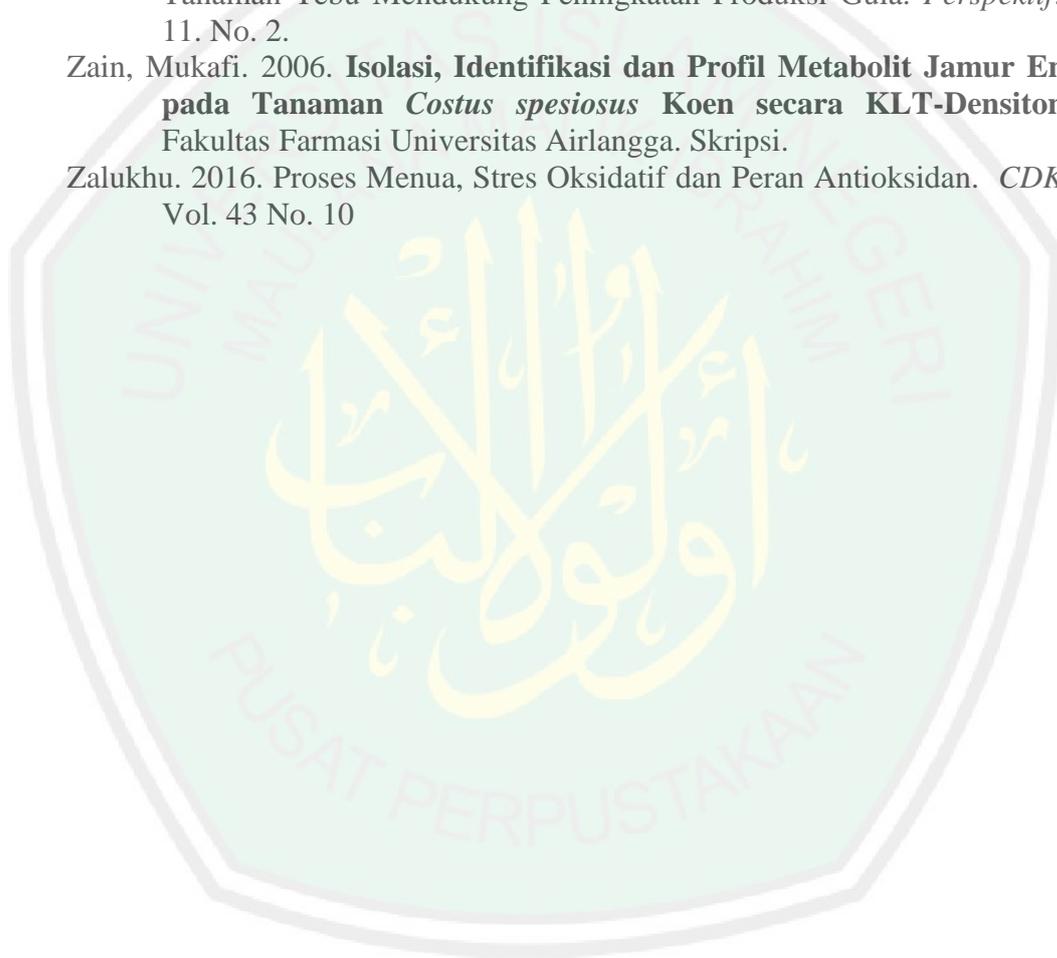
- Kusari, S., dan Michael, S. 2012. *Metabolomics of Endophytic Fungi Producing Associated Plant Secondary Metabolites: Progress, Challenges and Opportunities*, Metabolomics, Dr Ute Roessner (Ed.). 978-953-51-0046-1. InTech.
- Mahmoud I., Marzouk M., Moharram M., El-Gindi M., Hassan A. 2001. *Acylated Flavonol Glycosides from Eugenia jambolana Leaves*. *Phytochemistry*. 58: 1239-1244.
- Marwan, Abu Yahya bin Musa. 2010. *Tafsir Hidayatul Insan*. Jilid 4.
- Masaki, Hitoshi. 2010. Role of Antioxidants in The Skin: Anti-aging Effect. *Journal of Dermatology Science*. Vol. 58. No. 2.
- Meshram, G.A., Sumil S.Y., Dattatraya S., Bhavana P. dan Deepak S. 2011. Antibacterial Study and Effect of Ethanolic Extracts of *Syzygium cumini* Seeds Powder on Glucoamylase in vitro. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 3. No. 2.
- Milasari, Dewi. 2006. **Isolasi, Identifikasi dan Profil KLT Metabolit Jamur Endofit dari *Agave amaniensis***. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Bagian Alam Surabaya.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hidrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. Vol. 26. No. 2
- Morton, J. 1987. *Fruits of Warm Climates*. Miami: FL.
- Murthy, N. K., K. C. Pushpalatha dan C. G. Joshi. 2011. Antioxidant Activity and Phytochemical Analysis of Endophytic Fungi Isolated from *Lobelia nicotianifolia*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. No. 3. Vol. 5.
- Nair, L.K., Maleeka B. dan Geetha S. 2013. *In vitro* Antioxidant Activity of the Seed and Leaf Extract of *Syzygium cumini*. *Journal of Enviromental Science, Toxicology and Food Technology*. Vol. 7. No. 1.
- Nasri, H., Shirzad H., Baradaran A. dan Rafieian-Kopaei M. 2015. Antioxidant Plants and Diabetes Mellitus. *Jur Res Med Sci*.
- Nwogu, C. G. I. 2012. Comparative Evaluation of Growth Media for the Cultivation of Fungal Culture. *Journal Plant Pathology & Microbiology*. Vol. 3. No. 6.
- O'neil, M.J. 2006. (ed). *The Merck Index – An Eyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. NJ: Merck and Co.
- Octavia, D. R. 2009. **Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (*Anredera corfolia* (Tenore) Steen) dengan Metoda DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrasil)**. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Skripsi.
- Okawa, M. J. Kinjo, T. Nohara and M. Ono. 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil) Radical Scavenging Acticity of Flavonoid Obtained from Some Medical Plants. *Biok Pharm Bull*. Vol. 24 No. 10
- Parmar, Jyoti., Priyanka S. dan Pradeep. K. G. 2013. Role of *Syzygium cumini* Extraxt in Preventing the 7, 12 – Dimethylbenz (a) Anthracene Induced Skin Carcinogenesis. *Research & Reviews : Journal of Zoological Sciences*. Vol. 1. No. 1.
- Pazil, S. N. BT. 2009. **Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daging Pisan Raja (*Musa AAB 'pisang raja'*) dengan Vitamin A, Vitamin C**

- dan Katekin melalui Penghitungan Bilangan Peroksida.** Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Program Studi Pendidikan Dokter Umum Jakarta. Skripsi.
- Peyravi, D., M. Moezzi. 2013. Healthy Nutrition in Quran, the Muslim Holy Book. *International Conference on Nutrition and Food Sciences*. Vol. 53. No. 22.
- Pham-Huy, L. A., Hua He dan Chuong Pham-Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J. Biomed Sci*. Vol. 4. No. 2.
- Pietta P-G., 1999. Flavonoids as Antioxidants, Review. *J. Nat. Prod*. 63. 1035-1042.
- Prakash, A., Fred R. dan E. Miller. 2001. *Antioxidant Activity*. Medalliaon Laboratories Analitiycal Progress. Vol. 10. No. 2.
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Erlangga.
- Priya, S. H., Nisha P. dan Jayamurthy P. 2017. Antioxidant Activity, Phenolic-Flavonoid Content and High Performance Liquid Chromatography Profiling of Three Different Variants of *Syzygium cumini* seeds: A Comparative Study. *Journal of International Ethnopharmacology*. Vol. 6. No. 1.
- Puspita, M. D. 2010. Identifikasi Kandungan Tanin dalam Ekstak Etanolik Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dari Kebun Tanaman Obat Universitas Sanata Dharma dengan Metode KLT-Densitometri
- Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol.2. No. 3: 113-126.
- Rahman, M.N. 2009. **Aktivitas Antibakteri Senyawa Hasil Biotransformasi Kurkumin oleh Mikroba Endofit Asal Kunyit.** Departemen Biokimia fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Ramya, S., Neethirajan, K., Jayakumararaj, R. 2012. Profile of Bioactive Compounds in *Syzygium cumini*. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 5. No. 8: 4548-4553.
- Rastogi, RM., Mehtora, BN. 1990. Compendium of Indian Medicinal Plants. India: *Central Drug Research Intitute*. Vol. 1.
- Rendowati, A., A. Djamaan dan D. Handayani. 2017. Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Symbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. Vol. 4. No. 2.
- Rohadi, R., S. Rahadjo, L. I. Falah dan Umar Santoso. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstraksi Biji Duwet (*Syzygium cumini* Linn.) pada Peroksida Lipida secara *in Vitro*. *Agritech*. Vol. 36. No. 1.
- Rohadi. 2017. Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Methanolic Extract of Java Plum (*Syzygium cumini* Linn.) Seed. *Indonesia Food and Nutrition Progress*. Vol. 14. No. 1.
- Ruiz, B., A. Chavez, A. Forero, Y. Garcia-Huante, A. Romero, M. Sanchez, D. Rocha, B. Sanchez, R. Rodriguez-Sanoja, S. Sanchez dan E. Langley. 2010. Production of Microbial Secondary Metabolites Regulation by The Carbon Source. *Critical Reviews in Microbiology*. Vol. 36. No. 2.

- Rusli, N. V. Syfriani, S. Hatta dan M. Wais. 2017. Optimasi Produksi Antibiotika Isolat Terpilih Fungi Endofit IKD FF-UMI 02 dari Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Variasi Sumber Karbon. *As-syifaa*. Vol. 09. No. 01.
- Sah, A. K., Verma. K. V. 2011. *Syzygium cumini* : An Overview. *Journal Chem. Res.* Vol. 3. No. 3: 108-113.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. **Kromatografi**. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. **Spektroskopi**. Yogyakarta: Liberty.
- Sayuti. 2015. **Antioksidan Alami dan Sintetik**. Padang : Andalas University Press.
- Schulz, B & Boyle, C. 2006. What Are Endophytes? Dalam : Schulz, B., Boyle, C. & Sieber, T.N. (Eds.). *Soil Biology*. Vol. 9. *Microbial Root Endophytes*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Senthilkumar, M., M. Gowri dan V. Vadivel. 2017. Phytochemical Analysis of Bioactive Compound *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *World Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 6. No. 7.
- Septiawan, Ayu. 2014. **Potensi Antioksidan Filtrat dan Biomassa Hasil Fermentasi Kapang Endofit *Colletotricum* spp. dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd.)**. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Skripsi.
- Shahnawaz, M., Saghir A. S., Muhammad I. B. dan Ejaz A. 2015. Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Jamun Fruit (*Eugenia jambolana*) Products.
- Sharma, Abhishek, Meeta B., Jossy V. And Naresh C. 2013. Separation and Quantification of Tannic Acid in *Bryophillum pinnatum* (Lam.) Kurz. by High Performance Thin Layer Chromatography. *Asian Journal of Chemistry*. Vol. 25. No. 16.
- Sharma, G. 2010. Influence of Culture Media on Growth, Colony Character and Sporulation of Fungi Isolated from Decaying Vegetables Wastes. *Journal of Yeast and Fungal Research*. Vol. 1. No. 8.
- Sherma, J. & B. Fried. 2003. **Handbook of Thin-Layer Chromatography**. New York. Marcel Dekker, Inc.
- Shihab, M.Q. 2017. **Tafsir Al Misbah**. Volume 11. Banten: Lentera Hati.
- Shihab, M.Q. 2017. **Tafsir Al Misbah**. Volume 4. Banten: Lentera Hati.
- Sikder, Md. Al Amin, Mohammad A. Kaisar, Muhammad S. Rahman, Choudhury M. Hasan, Adnan J. Al-Rehaily dan Muhammad A. Rashid. 2012. Secondary Metabolites from Seed Extracts of *Syzygium cumini* (L.). *Journal of Physical Science*. Vol. 23. No. 1.
- Soncharan, P., Shanmugarajan T.S., Somasundaran I. dan Maity N. 2010. Protective Effect of *Syzygium cumini* Seeds Against Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Rats. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*.
- Sridhar, SB., Sheetal UD., Pai MR. dan Shastri MS. 2005. Preclinical Evaluation of the Antidiabetic Effect of *Eugenia jambolana* Seed Powder in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 38: 467-468.

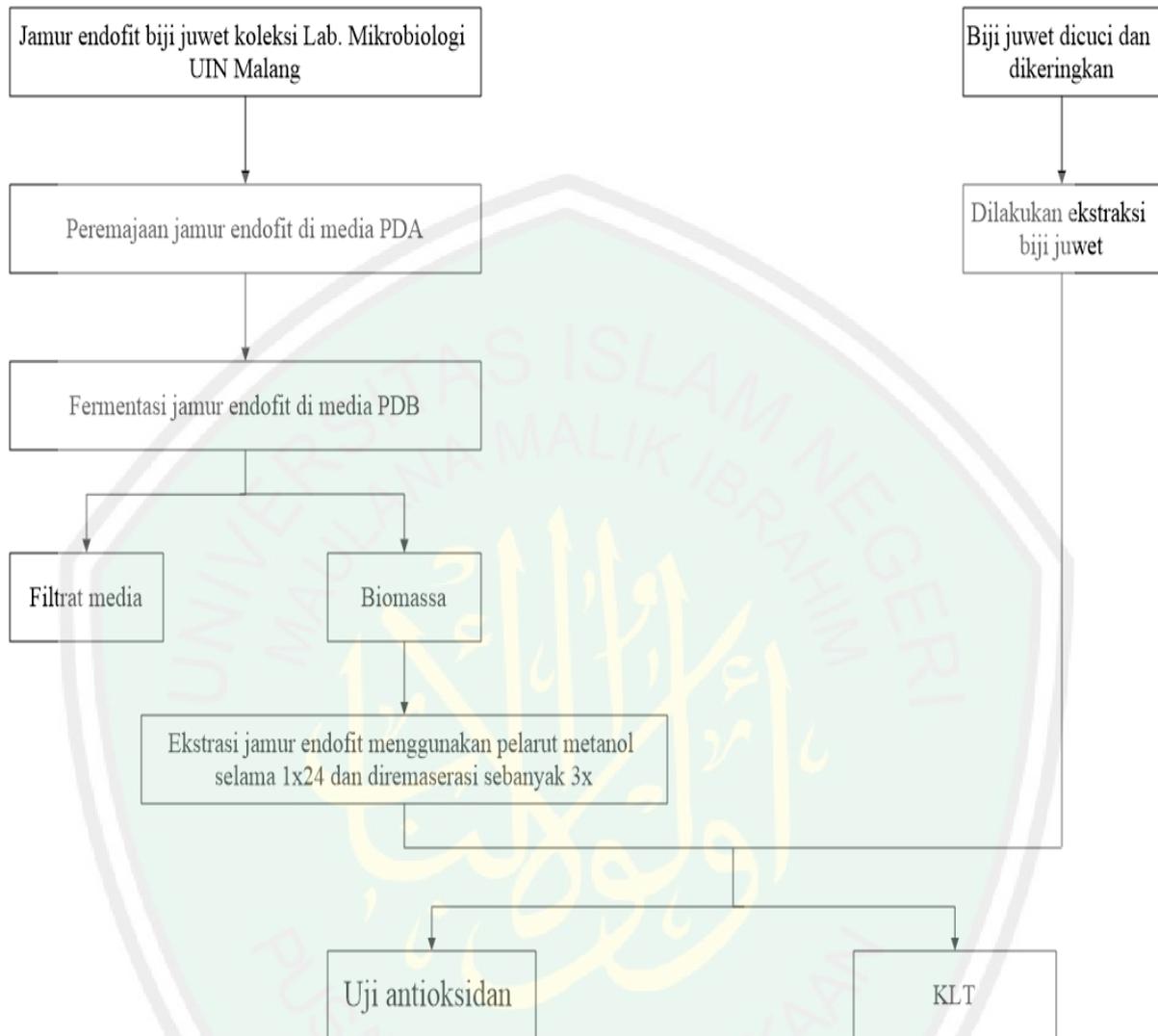
- Srikandace, Yoice, Y. Hapsari dan P. Simanjuntak. 2007. Seleksi Mikroba Endofit *Curcuma zedoaria* dalam Memproduksi Senyawa Kimia Antimikroba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5. No. 2.
- Stahl, Egon. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh Dr. Kosasih Padmawinata dan Dr. Iwang Sudiro. Bandung. Penerbit ITB.
- Strobel, G., Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products, *Microbiology and Molecular Biology Review*. 67: 491-502.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. & Harper, J. 2004. Natural Product from Endophytic Mikroorganisms. *Journal Nat. Prod*. 67: 257-268.
- Subowo. 2011. *Biologi Sel*. Jakarta: CV. Agung Seto.
- Sukandar, D. dan Eka R.A. 2013. Karakteristik Senyawa Aktif Antioksidan dan Antibakteri dalam Ekstrak Etanol Buah Namnam (*Cynometra cauliflora* L.). *Valensi*. Vol. 3. No. 1.
- Sutar, N. G. dan Pal, S. C. 2015. Quantification of Pharmacologically Active Marker Gallic Acid and Ellagic Acid From Leaf and Stem of *Pergularia deamia* Forsk. by HPTLC Method. *Journal Analytical and Bioanalytical Techniques*. Vol. 7. No. 1.
- Tampubolon, OT. 1995. *Tumbuhan Obat*. Jakarta: Bhatara.
- Tristantini, D., Alifah I., Bhayangkara T. P. dan Jason G. J. 2016. **Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Minusops elengi* L)**. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.
- Tukiran, A. P. Wardana, N. Hidayati dan K. Shimizu. 2017. An Ellagic Acid Derivative and Its Antioxidant Activity of Chloroform Extract of Stem Bark of *Syzygium polycephalum* Miq. (Myrtaceae). *Indonesia J. chem*.
- United State Departemen of Agriculture (USDA). 2012. *Plants Profile for Syzigium cumini (Java Plum)*. (<https://plants.USDA.gov/core/profile?symbol=SYCU>). Diakses 15 Februari 2018).
- Vega, F. E., M. P. Ripoll, F. Posada dan J. S. Buyer. 2005. Endophytic Bacteria in *Coffea arabica* L. *J. Basic. Microbiol*. Vol. 45.
- Veni, Krishna N., Meyyanathan S. N. dan Suresh B. 2012. Analysis of Ellagic Acid in Fresh and Processed Fruit Products By High Performance Thin Layer Chromatography. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol. 3. No. 7.
- Verheiji, E. W. M., dan R. E. Coronel. 1997. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2*. Penerjemah S. Danimiharja; H. Sutarno; N. W. Utami; dan D. S. H. Hopsen. Jakarta: Gramedia.
- Watson, R. R. dan Preedy, V. R. 2012. Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes. USA: Elsevier.
- Weast, R.C. 1979. (ed.). *Handbook of Chemistry and Physic*. Florida: CRC Press Inc.
- Winarti, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta.

- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, Erowati, T. I. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali *Artocarpus*. Vol. 1.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta: Penerbit Akademis Permata.
- Wulandari, Lesty. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Kmapus Presindo.
- Yadav, M., Amita Y. dan J. P. Yadav. 2014. In vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Endophytic Fungi Isolated from *Eugenia jambolana* Lam. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. Vol. 7.
- Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol. 11. No. 2.
- Zain, Mukafi. 2006. **Isolasi, Identifikasi dan Profil Metabolit Jamur Endofit pada Tanaman *Costus speciosus* Koen secara KLT-Densitometri**. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Skripsi.
- Zalukhu. 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan. *CDK-245*. Vol. 43 No. 10



LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Penelitian



Lampiran 2. Tabel Hasil Kurva Pertumbuhan

Hari	Isolat								
	S1			S2			S3		
	BK	BK+JE	Selisih	BK	BK+JE	Selisih	BK	BK+JE	Selisih
1	0.3746	0.4068	0.0322	0.3551	0.3846	0.0295	0.3573	0.3838	0.0265
2	0.3484	0.3851	0.0367	0.3427	0.3857	0.043	0.3577	0.3846	0.0269
3	0.365	0.4121	0.0471	0.3633	0.4379	0.0746	0.3631	0.3831	0.02
4	0.3655	0.4181	0.0526	0.3614	0.4197	0.0583	0.3654	0.3865	0.0211
5	0.3744	0.4338	0.0594	0.3739	0.4298	0.0559	0.3638	0.4492	0.0854
6	0.3571	0.4394	0.0823	0.3635	0.4213	0.0578	0.3551	0.4533	0.0982
7	0.3638	0.4672	0.1034	0.3539	0.4108	0.0569	0.3514	0.4683	0.1169
8	0.3644	0.4791	0.1147	0.3655	0.4249	0.0594	0.3469	0.4737	0.1268
9	0.3673	0.496	0.1287	0.369	0.4321	0.0631	0.3593	0.4562	0.0969
10	0.3608	0.4676	0.1068	0.366	0.4259	0.0599	0.3657	0.4618	0.0961
11	0.3739	0.4608	0.0869	0.3689	0.4297	0.0608	0.363	0.4567	0.0937
12	0.3511	0.4331	0.082	0.3652	0.4267	0.0615	0.359	0.4409	0.0819
13	0.3639	0.4511	0.0872	0.3656	0.4228	0.0572	0.3651	0.4491	0.084
14	0.3739	0.4457	0.0718	0.3686	0.4188	0.0502	0.3495	0.4219	0.0724

Lampiran 3. Perhitungan**Lampiran 3.1. Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM**

DPPH 0,2mM dalam 50mL metanol p.a

$$Mr \text{ DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol DPPH} = 50\text{mL} \times 0,2\text{mM}$$

$$= \frac{50\text{mL} \times 0,2\text{M}}{1000\text{mL}} = 0,01\text{mL}$$

$$= 0,01\text{mMol} \times Mr\text{DPPH}$$

$$= 0,01\text{mMol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 3,9433\text{mg}$$

**Lampiran 3.2. Pembuatann stok larutan sampel
Sampel S1 dan S3 stok larutan sebanyak 500ppm**

$$\begin{aligned} 500\text{ppm ekstrak} &= 500\text{mg/L} \\ &= 500\text{mg}/1000\text{mL} \\ &= 5\text{mg}/10\text{mL} \end{aligned}$$

Sampel S2 stok larutan sebanyak 200ppm

$$\begin{aligned} 200\text{ppm esktrak} &= 200\text{mg/L} \\ &= 200\text{mg}/1000\text{mL} \\ &= 2\text{mg}/10\text{mL} \end{aligned}$$

Lampiran 3.3. Pengenceran Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit

- **PembuatanKonsentrasi Sampel 25ppm untuk Jamur Endofit S1 dan S3**

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan :

V1 = Volume yang diambil untuk pengenceran

V2 = Volume larutan yang diinginkan

M1 = Konsentrasi larutan stok

M2 = Konsentrasi larutan hasil pengenceran

$$V1 = \frac{4\text{ml} \times 25\text{ppm}}{500\text{ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,2mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 25ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

- **PembuatanKonsentrasi Sampel 50ppm untuk Jamur Endofit S1 dan S3**

$$V1 = \frac{4\text{mL} \times 50\text{ppm}}{500\text{ppm}} = 0,4 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,4mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 50ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

- **PembuatanKonsentrasi Sampel 100ppm untuk Jamur Endofit S1 dan S3**

$$V_1 = \frac{4\text{ml} \times 100\text{ppm}}{500\text{ppm}} = 0,8 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,8mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 100ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 150ppm untuk Jamur Endofit S1 dan S3**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 150\text{ppm}}{500\text{ppm}} = 1,2 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 1,2mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 150ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 200ppm untuk Jamur Endofit S1 dan S3**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 200\text{ppm}}{500\text{ppm}} = 1,6 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 1,6mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 200ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 25ppm untuk Jamur Endofit S2**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 25\text{ppm}}{200\text{ppm}} = 0.5 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,5mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 25ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 50ppm untuk Jamur Endofit S2**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 50\text{ppm}}{200\text{ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 1mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 50ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 100ppm untuk Jamur Endofit S2**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 100\text{ppm}}{200\text{ppm}} = 2\text{mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 2mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 100ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 150ppm untuk Jamur Endofit S2**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 150\text{ppm}}{200\text{ppm}} = 3\text{mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 3mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 150ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **PembuatanKonsentrasi Sampel 200ppm untuk Jamur Endofit S2**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 200\text{ppm}}{200\text{ppm}} = 4\text{mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 4mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 200ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

Lampiran 3.4. Pembuatan Stok Larutan Asam Askorbat 300ppm

$$\begin{aligned} 300\text{ppm ekstrak} &= 300\text{mg/L} \\ &= 300\text{mg}/1000\text{mL} \\ &= 3\text{mg}/10\text{mL} \end{aligned}$$

Lampiran 3.5. Pengenceran Asam Askorbat

➤ **Pembuatan Sampel 3ppm**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 3\text{ppm}}{300\text{ppm}} = 0,04\text{mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,04mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 3ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **Pembuatan Sampel 6ppm**

$$V_1 = \frac{4\text{mL} \times 6\text{ppm}}{300\text{ppm}} = 0,08\text{ mL}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,08mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 6ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **Pembuatan Sampel 9ppm**

$$V1 = \frac{4mL \times 9ppm}{300ppm} = 0,12mL$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,12mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 9ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **Pembuatan Sampel 12ppm**

$$V1 = \frac{4mL \times 12ppm}{300ppm} = 0,16mL$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,16mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 12ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

➤ **Pembuatan Sampel 15ppm**

$$V1 = \frac{4mL \times 15ppm}{300ppm} = 0,2mL$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperlukan 0,16mL dari larutan stok untuk membuat konsentrasi 12ppm jamur endofit, dan ditambahkan metanol pa hingga 4mL.

Lampiran 3.6. Perhitungan nilai IC50

➤ **Jamur Endofit S1 (*Phomopsis* sp.)**

$$Y = -0,3318x + 73,223$$

$$50 = -0,3318x + 73,223$$

$$X = \frac{50 - 73,223}{-0,3318} = 69,99$$

➤ **Jamur Endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*)**

$$Y = -0,4907x + 104,03$$

$$50 = -0,4907x + 104,03$$

$$X = \frac{50 - 104,03}{-0,4907} = 110,10$$

➤ **Jamur Endofit S3 (*Phomopsis* sp.)**

$$Y = -0,4822x + 91,576$$

$$50 = -0,4822x + 91,576$$

$$X = \frac{50 - 91,576}{-0,4822} = 86,22$$

Lampiran 3.6. Perhitungan Nilai rf Ekstrak Jamur Endofit Biji Juwet

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

- Perhitungan Nilai rf Ekstrak Jamur Endofit S1 (*Phomopsis* sp.)

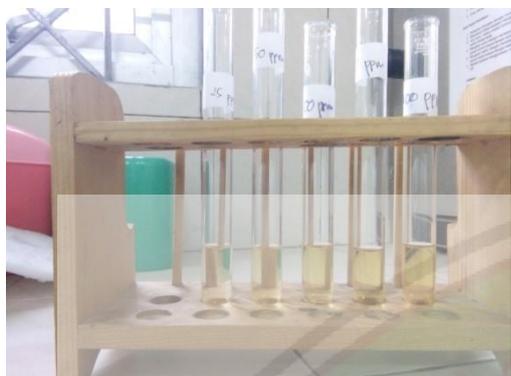
$$Rf = \frac{6,8}{8,5} = 0,71$$

- Perhitungan Nilai rf Ekstrak Jamur Endofit S3 (*Phomopsis* sp.)

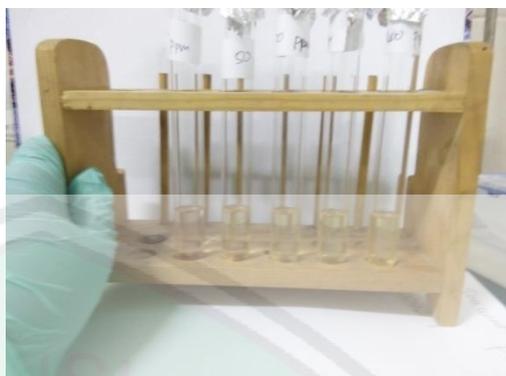
$$Rf = \frac{6,9}{8,5} = 0,82$$

Lampiran 4. Gambar

Lampiran 4.1 Gambar perubahan warna larutan DPPH + ekstrak sampel isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.), S2 (*Collectotrichum fructicola*) dan S3 (*Phomopsis* sp.)



Ekstrak isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.)



Ekstrak isolat jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*)

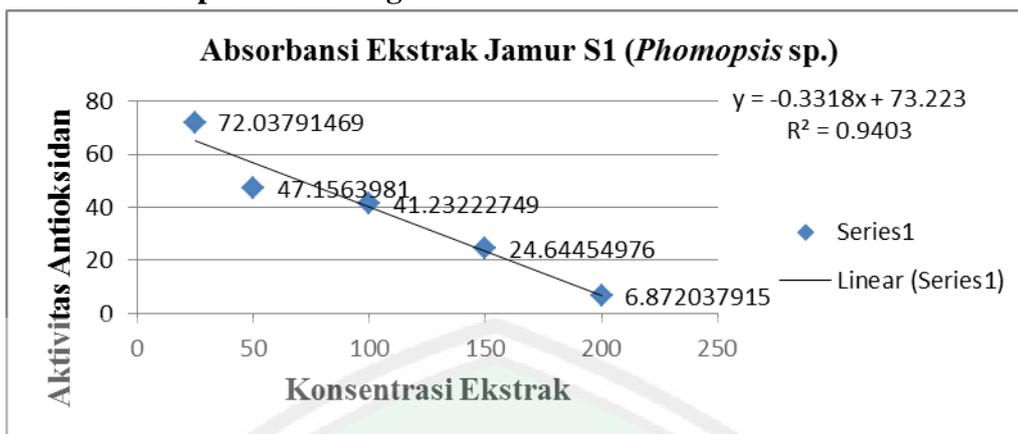


Ekstrak isolat jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.)

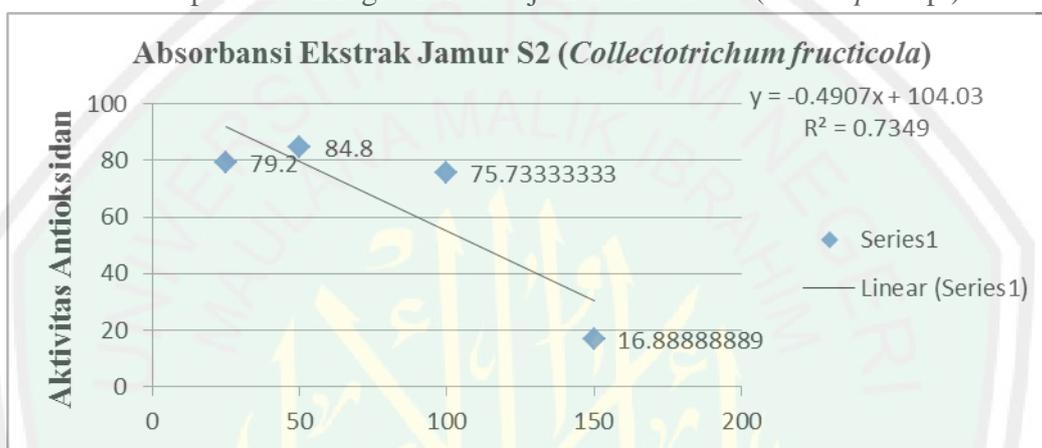


Asam askorbat

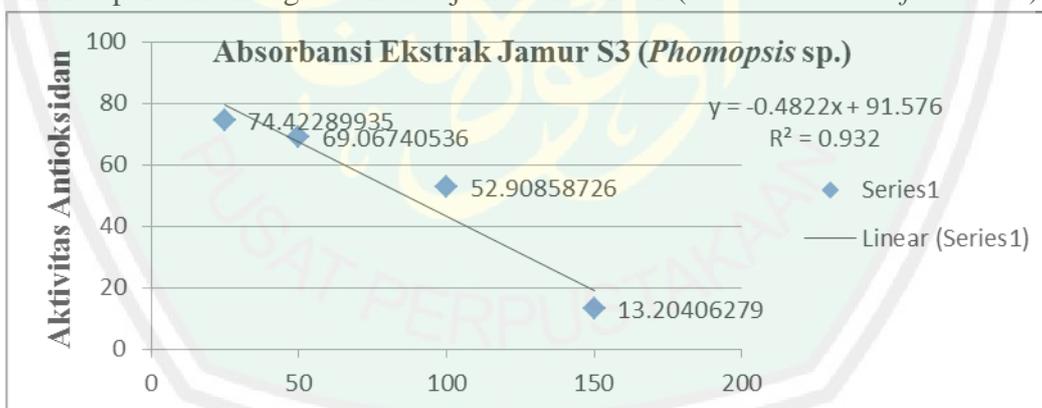
Lampran 4.2 Kurva persamaan regresi



Kurva persamaan regresi ekstras jamur endofit S1 (*Phomopsis sp.*)



Kurva persamaan regresi ekstras jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*)



Kurva persamaan regresi ekstras jamur endofit S3 (*Phomopsis sp.*)

Lampiran 4.3 Dokumentasi penelitian



Pembuatan kurva pertumbuhan jamur endofit menggunakan shaker



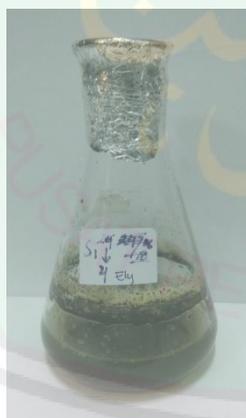
Proses pengeringan miselia jamur endofit



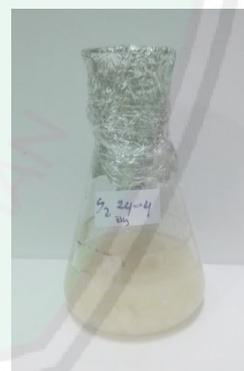
Hasil pengeringan miselia jamur endofit



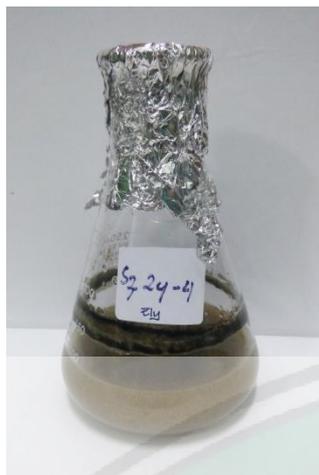
Proses inokulasi jamur endofit dari media padat ke media cair untuk proses ekstraksi metabolit sekunder



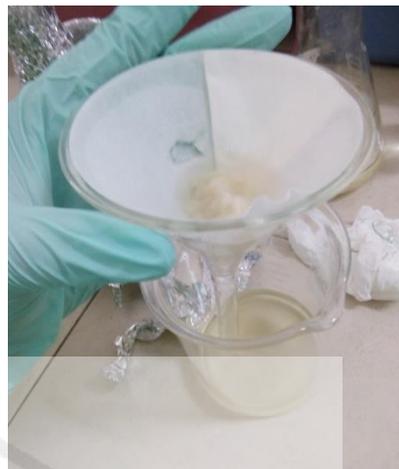
Isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.) pada media cair



Isolat jamur endofit S2 (*Collectotrichum fruticola*) pada media cair



Isolat jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.) pada media cair



Proses penyaringan miselia jamur endofit



Proses ekstraksi jamur endofit



Pemekatan ekstrak dengan rotary evaporator



Hasil pemekatan ekstraksi isolat jamur endofit S1 (*Phomopsis* sp.)



Hasil pemekatan ekstraksi isolat jamur endofit S2 (*Collectotrichum fructicola*)



Hasil pemekatan ekstraksi isolat jamur endofit S3 (*Phomopsis* sp.)



Proses peremajaan jamur endofit biji juwet





MINISTRY OF RELIGIOUS
ISLAMIC STATE UNIVERSITY MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG SCIENCE AND TECHNOLOGY FACULTY
BIOLOGICAL DEPARTMENT

Jl. Gajayuna No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI

Nama : Ely Nuril Fariyah

NIM : 14620096

Program : Biologi

Semester : Ganjil

Pembimbing : Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc

Jucul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Biji Juwet
(*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dan Potensinya sebagai
Antioksidan

No.	Tanggal	Keterangan	Tanda Tangan
1.	16-01-2018	Konsultasi Judul	1.
2.	29-01-2018	Konsultasi Judul	2.
3.	08-02-2018	Konsultasi BAB I	3.
4.	27-02-2018	Konsultasi BAB I, II	4.
5.	08-03-2018	Konsultasi BAB I, II, III	5.
6.	18-04-2018	Konsultasi BAB I, II, III	6.
7.	10-05-2018	Konsultasi BAB I, II, III	7.
8.	25-05-2018	Konsultasi BAB I, II, III	8.
9.	15-08-2019	Konsultasi BAB I, II, III, IV	9.
10.	30-08-2019	Konsultasi BAB I, II, III, IV, V	10.
11.	20-09-2019	Konsultasi IV	11.



MINISTRY OF RELIGIOUS
ISLAMIC STATE UNIVERSITY MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG SCIENCE AND TECHNOLOGY FACULTY
BIOLOGICAL DEPARTMENT

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

12.	25-09-2019	Konsultasi BAB I, II, III, IV, V	12.
15.	09-10-2019	ACC	13.

Malang, Desember 16, 2019

Pembimbing Skripsi

Ketua Jurusan

Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc

NIPT. 19900428 20160801 2 062



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP.19810201 200901 1 019



MINISTRY OF RELIGIOUS
ISLAMIC STATE UNIVERSITY MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG SCIENCE AND TECHNOLOGY FACULTY
BIOLOGICAL DEPARTMENT

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI AGAMA

Nama : Ely Nuril Fariyah
NIM : 14620096
Program : Biologi
Semester : Ganjil
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M. Sc
Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Biji Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dan Potensinya sebagai Antioksidan

No.	Tanggal	Keterangan	Tanda tangan
1.	06-03-2018	Perkenalan dan Konsultasi Integrasi	1.
2.	03-04-2018	Konsultasi BAB I	2.
3.	26-04-2018	Konsultasi BAB I dan II	3.
4.	14-05-2018	Konsultasi BAB I dan II	4.
5.	25-08-2019	Konsultasi BAB IV	5.
6.	04-09-2019	Konsultasi BAB IV	6.
7.	09-10-2019	ACC	7.

Malang, Desember 16, 2019

Pembimbing Agama

Mujahidin Ahmad, M. Sc

NIP. 19860512 201903 1 002



Kepala Jurusan

Romaidy, M. Si., D.Sc

NIP.19810201 200901 1 019