

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT DARI BUAH DAN
DAUN STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) SEBAGAI PENGHASIL
SENYAWA ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :

EMILIA RAHMAWATI

NIM. 12620047



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT DARI BUAH DAN
DAUN STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) SEBAGAI PENGHASIL
SENYAWA ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

EMILIA RAHMAWATI

NIM. 12620047

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT DARI BUAH DAN
DAUN STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) SEBAGAI PENGHASIL
SENYAWA ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh :

EMILIA RAHMAWATI

NIM. 12620047/S-1

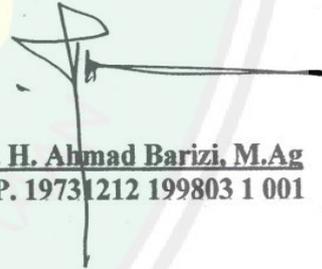
Telah disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M.Ag
NIP. 19731212 199803 1 001

Tanggal, 29 November 2016

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT DARI BUAH
DAN DAUN STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) SEBAGAI
PENGHASIL SENYAWA ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

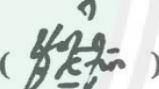
Oleh :

EMILIA RAHMAWATI

NIM. 12620047

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Desember 2016

Penguji Utama : Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R., M.P ()
NIP. 19620901 199803 2 001

Ketua Penguji : Anik Maunatin, M.P ()
NIPT. 2014 0201 2412

Sekretaris Penguji : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si ()
NIP. 19650509 199903 2 002

Anggota Penguji : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A ()
NIP. 19731212 199803 1 001

Mengetahui dan Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002



PERNYATAAN ORIENTALISASI PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Emilia Rahmawati

NIM : 12620047

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Dari Buah Dan Daun Strawberry (*Fragaria X Ananassa*) Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/ skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Januari 2017

Yang membuat pernyataan,



Emilia Rahmawati

NIM. 12620047

MOTTO

“Kebaikan adalah bahasa yang bisa didengar oleh orang tuli dan dilihat oleh orang buta”

(Mark Twin)

خير الناس أنفعهم للناس

“Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat untuk manusia lainnya”

(HR. AHMAD)

“Cobalah untuk tidak menjadi orang yang sukses, melainkan untuk menjadi orang yang bernilai”

(Galileo Galilei)

Halaman Persembahan

Syukur alhamdulillah kupanjatkan rasa syukur yang tiada terkira kepada Allah SWT, dibalik sesuatu yang kacau balau, membingungkan, mengkhawatirkan, mencemaskan, dan mengharubirukan keadaan selalu tampak petunjuk-petunjukNya untuk menuntun penulis menyelesaikan hasil karya dari perjuangan yang sangat luar biasa ini.

Sholawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW, suri tauladan bagi umat untuk terus berjuang di jalanNya.

Dengan mengucapkan alhamdulillahirobbilalamin,

Kupersembahkan karya kecil penuh perjuangan ini kepada:

Ayahandaku Ali Murtadloh dan ibundaku Dwi Endang Suprihatin yang selalu menyematkan namaku disetiap doa-doanya, membimbing, mendidik, dan memberikan restu serta dukungan yang luar biasa dalam setiap perjalanan hidupku.

Adikku Ovan Praman Putra yang selalu memberi keceriaan dalam segala hal, serta mengajarkanku arti menjadi seorang kakak.

Mas Ery Dwi Firmansyah yang telah menjadi penyempurna imanku, selalu mendukung, menyemangati, dan membimbingku.

Ustad Khudori dan ibu Erik selaku pengasuh Ponpes putri al azkiya yang selalu memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan tugas akhir ini. Saudara-saudaraku ponpes al azkiya terimakasih sudah menjadi keluarga yg baik. Teman-teman terbaikku koloni mikro (anik, riza, nita, zahra, rurin, izza, naim, habibah) yang selalu menemani meski sama-sama lelahnya di lab.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan rahim Nya kepada mereka semua. Aamiin..

KATA PENGANTAR



Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*) sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan”. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih inipenulis sampaikan kepada:

1. Ayah, dan ibunda, adek, imamku dan keluargaku tercinta yang selalu mendidik dan memberikan kasih sayangnya dengan sepenuh hati dan telah memberikan doa restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan kasih sayang Alloh selalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Jannah Nya.
2. Guru-guruku TK Bhayangkari, SD Balongsari 7, SMPN 1 Mojokerto, SMAN 3 Mojokerto, para Kyai-bu Nyai dan ustadz ustadzah di podok pesantren yang pernah penulis jadikan tempat menimba ilmu. Perantara merekalah penulis dapat mengenal baca tulis dan memahami agama dengan benar semoga Alloh selalu memberikan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.
3. Ust. Khudhori Sholeh dan Ibu Erik Sabti Rahmawati selaku pengasuh Pondok Pesantren Putri Al Azkiya yang selalu memberi ilmu dan arahan kepada penulis selama menjadi santri.
4. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Dr.Hj. Ulfah Utami, M.Si, sebagai dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan memberikan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.

8. Dr. Ahmad Barizi, M.A sebagai dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
9. Ir. Liliek Harianie, A.R, M.P dan Anik Maunatin, M.P sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
10. Dr. Retno Susilowati, M.Si sebagai dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan
11. Elok Kamilah Hayati, M.Si, Ghanaim Fasya, M.Si, dan Hanapi, M.Si selaku konsultan kimia yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan tekun dan sabar.
12. Ibu Dr. Mufidah Ch, M.Ag selaku pemimpin Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat UIN Malang, Kader POSDAYA Masjid yang telah banyak memberi ilmu bermasyarakat.
13. Seluruh laboran yang telah meluangkan waktunya untuk membantu kinerja selama penelitian berlangsung.
14. Teman-teman LKP2M, IPPNU, Forum Lingkar Pena, Volunteer LP2M dan Sie Kerohanian Islam yang selalu memberikan motivasi bahwa ketika kita masuk dalam sebuah tempat jangan sampai kita tidak meninggalkan jejak baik didalamnya.
15. Teman-teman PP Al Azkiya yang sudah menjadi keluarga terbaik.
16. Teman-teman mikro (Bioteknologi) yang selalu memberi semangat untuk tetap berjuang dan selalu sabar serta tidak cepat putus asa dalam penelitian di bidang bioteknologi.
17. Teman-teman ma'had Fatimah Azzahra kamar 313
18. Sahabat Biologi 2012, khususnya anak-anak mikro terimakasih atas segala bantuan dan semangatnya selama ini.
19. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala bantuannya. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Robbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 10 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORIENTALISASI PENELITIAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRAC	xvi
مخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis Penelitian	9
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>)	12
2.1.1 Kajian Islam Tentang Strawberry	12
2.1.2 Deskripsi dan Sejarah Strawberry	16
2.1.3 Komposisi Nutrisi Strawberry	19
2.1.4 Kandungan Kimia Strawberry	19
2.1.5 Manfaat Strawberry	24
2.2 Fungi	26
2.2.1 Fungi Endofit	27
2.2.2 Fase Pertumbuhan Fungi	31
2.2.3 Fungi Endofit Menghasilkan Metabolit Sekunder	32
2.2.4 Senyawa Metabolit Sekunder Fungi Endofit Sebagai Antioksidan.	35
2.3 Radikal Bebas	36
2.3.1 Definisi Radikal Bebas	36
2.3.2 Sumber dan Jenis Radikal Bebas	37
2.4 Antioksidan	38
2.4.1 Pengertian Antioksidan	38
2.4.2 Klasifikasi Antioksidan	42
2.4.3 Mekanisme Antioksidan	44
2.5 Pengujian Antioksidan dengan DPPH	45

2.6 Teknik Pemisahan Senyawa Aktif dengan Ekstraksi Cair-cair	51
2.7 Spektrofotometer UV-Vis	52

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian	55
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	55
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	55
3.3.1 Alat Penelitian	55
3.3.2 Bahan Penelitian	56
3.4 Prosedur Penelitian	57
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	57
3.4.2 Pembuatan Media	57
3.4.3 Isolasi Fungi Endofit	58
3.4.4 Pemurnian Fungi Endofit	59
3.4.5 Pembuatan <i>Stock Culture</i> dan <i>Working Culture</i>	59
3.4.6 Identifikasi Isolat Fungi Endofit	60
3.4.7 Pembuatan Kurva Pertumbuhan	61
3.4.8 Uji Metabolit Sekunder Fungi Endofit sebagai Antioksidan	61
3.4.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan	63
3.4.9.1 Pembuatan Larutan DPPH	63
3.4.9.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal	63
3.4.9.3 Pembuatan Larutan Asam Askorbat	63
3.4.9.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel	64
3.4.10 Analisis Data	65

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>)	66
4.2 Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>)	73
4.3 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit	82
4.4 Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit	88
4.5 Uji Metabolit Sekunder Fungi Endofit dalam Menghasilkan Senyawa Antioksidan	90
4.5.1 Hasil Absorbansi Senyawa Antioksidan Metabolit Sekunder Fungi Endofit	93
4.5.2 Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit	94

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	103
5.2 Saran	103

DAFTAR PUSTAKA	104
-----------------------------	------------

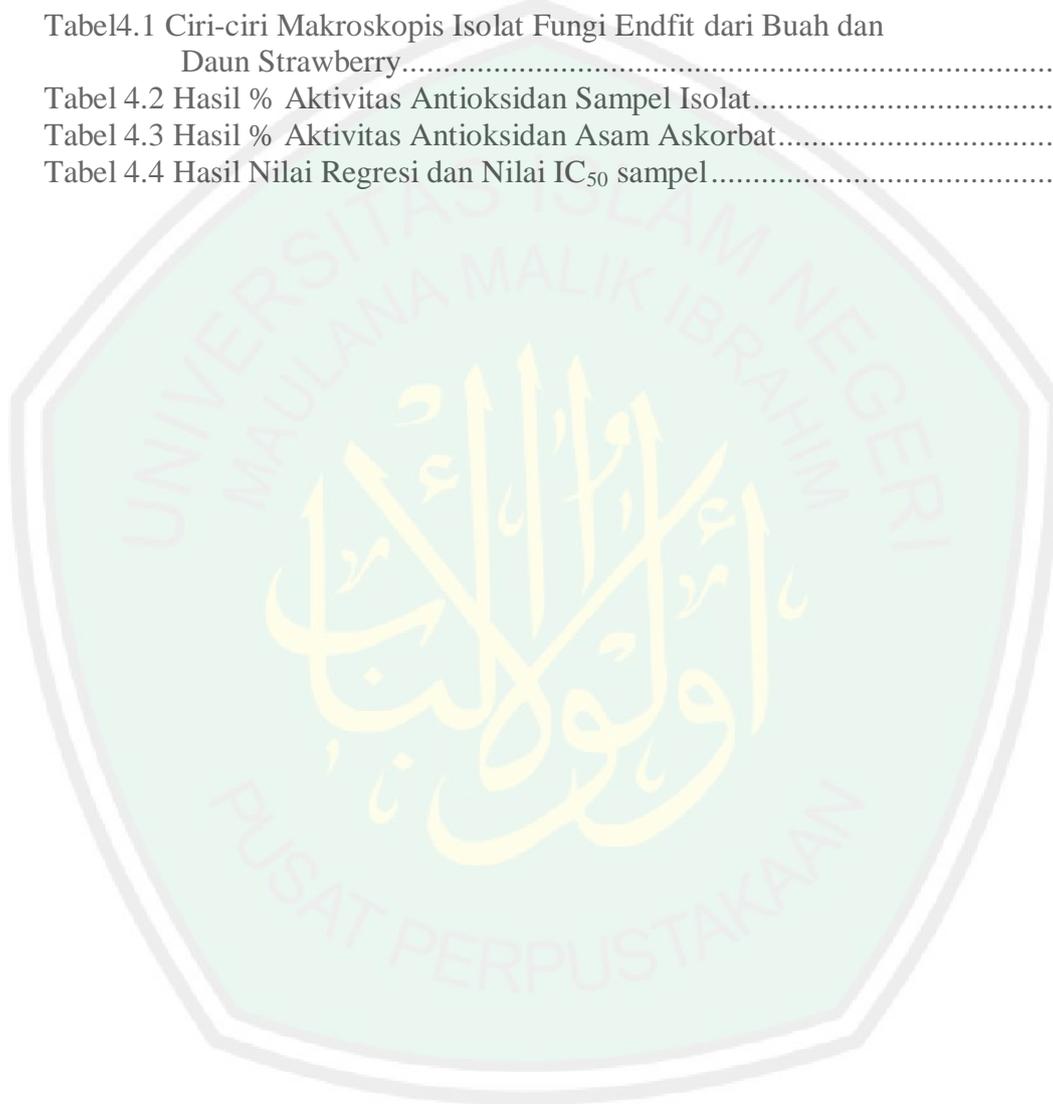
LAMPIRAN-LAMPIRAN	116
--------------------------------	------------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Daun dan Buah Strawberry	17
Gambar 2.2 Bagian-bagian Morfologi Strawberry	18
Gambar 2.3 Simbiosis Mikroba Endofit dengan Tanaman	31
Gambar 2.4 Kurva Pertumbuhan Fungi	32
Gambar 2.5 Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer terhadap Radikal Lipida.....	45
Gambar 2.6 Struktur Kimia DPPH	46
Gambar 2.7 Reduksi DPPH dari Senyawa Radikal Bebas.....	47
Gambar 2.8 Mekanisme Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan DPPH.....	50
Gambar 2.9 Diagram Sederhana dari Spektrofotometer Uv-Vis.....	54
Gambar 4.1 Fungi Endofit dalm Belahan Buah dan Daun Strawberry	67
Gambar 4.2 Foto Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis FB1serta Gambar Literatur	74
Gambar 4.3 Foto Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis FB2 serta Gambar Literatur	77
Gambar 4.4 Foto pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis FD1 serta Gambar Literatur	79
Gambar 4.5 Foto Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis FD2.....	81
Gambar 4.6 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FB1 (<i>Trichoderma</i> sp.)	83
Gambar 4.7 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FB2 (<i>Fusarium</i> sp.)	84
Gambar 4.8 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FD1 (<i>Mucor</i> sp.).....	85
Gambar 4.9 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FD2 (<i>Mucor</i> sp.).....	85

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi (Gizi) dalam 100 Gram Strawberry Segar.....	19
Tabel 2.2 Komposisi Antioksidan Buah Strawberry	41
Tabel 2.3 Ketentuan Kekuatan Antioksidan	49
Tabel 4.1 Ciri-ciri Makroskopis Isolat Fungi Endfit dari Buah dan Daun Strawberry.....	69
Tabel 4.2 Hasil % Aktivitas Antioksidan Sampel Isolat.....	95
Tabel 4.3 Hasil % Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat.....	95
Tabel 4.4 Hasil Nilai Regresi dan Nilai IC ₅₀ sampel.....	97



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian	116
Lampiran2 Langkah Kerja	117
Lampiran 3 Komposisi Media	124
Lampiran 4 Perhitungan	125
Lampiran 5 Data Hasil Penelitian.....	128
Lampiran 6 Dokumentasi	142



ABSTRAK

Rahmawati, Emilia. 2017. **Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Dari Buah Dan Daun Strawberry (*Fragaria X Ananassa*) Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan.** *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. (II) Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

Kata Kunci: Strawberry (*Fragaria x ananassa*), Fungi Endofit, Uji Aktivitas Antioksidan

Strawberry (*Fragaria x ananassa*) adalah tanaman subtropis yang dapat beradaptasi dengan baik di dataran tinggi tropis. Strawberry telah banyak digunakan untuk menanggulangi masalah kesehatan. Komponen senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat didalam buah dan daun strawberry berpotensi sebagai antioksidan. Kandungan metabolit sekunder ini juga terdapat pada mikroorganisme yang tumbuh di dalam jaringan buah dan daun strawberry yaitu fungi endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis fungi endofit yang terdapat didalam buah dan daun strawberry, serta mengetahui potensinya sebagai penghasil senyawa antioksidan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksplorasi dan eksperimen. Data hasil berupa deskriptif kualitatif yaitu isolasi dan identifikasi, dan deskriptif kuantitatif yaitu pengukuran aktivitas antioksidan. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi fungi endofit dari buah dan daun strawberry. Kemudian dilakukan pengambilan metabolit sekunder fungi endofit dengan cara fermentasi dan ekstraksi cair-cair. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kemudian dihitung aktivitas antioksidannya dengan graphad prism7.

Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 2 isolat fungi endofit berhasil diisolasi dari buah strawberry yaitu *Trichoderma* sp. dan *Fusarium* sp, sedangkan hasil isolasi dari daun sebanyak 2 isolat yaitu *Mucor* sp.1 dan *Mucor* sp.2. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan pada *Trichoderma* sp tergolong kuat sebesar 68,09 ppm. Pada *Fusarium* sp tergolong kuat sebesar 89,04 ppm. Pada *Mucor* sp.1 tergolong lemah sebesar 159,7. Pada *Mucor* sp.2 tergolong lemah sebesar 193,3 ppm.

ABSTRACT

Rahmawati, Emilia. 2017. **Isolation And Identification Of Endophytic Fungi Of Strawberry And Its Leaves (*Fragaria X Ananassa*) As A Producer Of Antioxidant Compounds.** Thesis. Biology Department, Sains and Technology Faculty. Maulana Malik Ibrahim the State Islamic University of Malang (UIN). Adviser: (I) Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. (II) Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

Keyword: Strawberry (*Fragaria x ananassa*), Endophytic Fungi, Antioxidant Activity

Strawberry (*Fragaria x ananassa*) is a subtropical plant that can be adapted well in tropical highlands. Strawberry has been used to combat health problems. Component of active compound of secondary metabolites contained in strawberry and its leaves have a potential as antioxidants. The content of secondary metabolite is also found in microorganisms that grow within strawberry and its leaves network i.e. endophytic fungi. This research aims to know the kind of endophytic fungi found in strawberry and its leaves, and to know its potential as a producer of antioxidant compounds.

The method used in this research is exploration and experiment. The data result is descriptive qualitative namely isolation and identification, and descriptive quantitative is measuring of antioxidant activity. This research carried out by isolating and identifying of endophytic fungi of strawberry and its leaves. Then take of metabolites of secondary endophytic fungi by fermentation and liquids extraction. Antioxidant activity test with DPPH method and absorbance measurements by using a Uv-Vis spectrophotometer. Then the antioxidant activity is calculated by graphad prism7.

The result of this research show as much as 2 isolates of endophytic fungi isolated from strawberries i.e. *Trichoderma* sp. and *Fusarium* sp, whereas isolated from the leaves as much as 2 isolated i.e. *Mucor*, *Mucor* sp.1 and sp.2. The test results showed that the antioxidant activity of *Trichoderma* sp relatively strong of 68.09 ppm. In *Fusarium* sp relatively strong of 89.04 ppm. In *Mucor* sp.1 relatively weak of 159.7. In *Mucor* sp.2 relatively weak of 193.3 ppm.

ملخص البحث

رحماتي، إيميليا. 2017. عزل وتعريف الفطريات النابوت الداخلي من فاكهة الفراولة ورقها (*Fragaria x ananassa*) لإنتاج مركبات المضاد للأوكسدة. بحث جامعي. قسم البيولوجيا، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرافان: (1) الدكتورة الحاجة أوتامي، الماجستير. (2) الدكتور الحاج أحمد بارزي، الماجستير.

الكلمة الرئيسية: الفراولة (*Fragaria x ananassa*)، الفطريات النابوت الداخلي، اختبار نشاط المضاد للأوكسدة.

الفراولة (*Fragaria x ananassa*) هي نبات شبه الاستوائية التي يمكن تكيفها جيدة في المرتفعات الاستوائية. و أكثر استخدا الفراولة لمعالجة المشكلات في الصحة. كان مكونات المركبات نشط في الأبيضية الثانوية التي توجد في فواكه الفراولة وأوراقها وإمكانية في مضاد للأوكسدة. محتوى للأبيضية الثانوية يوجد كذلك في الكائنات الدقيقة التي تنبت في أنسجة فاكهة الفراولة وورقها وهي الفطريات النابوت الداخلي. ويهدف هذا البحث إلى تحديد نوعها الواردة في فواكه الفراولة وأوراقها، ومعرفة إمكاناته كمنتج من مركبات المضادة للأوكسدة. المنهج المستخدم في هذا البحث الاستكشافية والتجريبية. وبيانات ووصفي كيفية وهيال عزل والتحديد، ووصفي كمية هي قياس نشاط المضاد للأوكسدة. وإقامة هذا البحث من خلال عزل وتحديد الفطريات النابوت الداخلي على فواكه الفراولة وأوراقها. ثم يتم أخذ الأبيضية الثانوية الفطريات النابوت الداخلي طريقة التخمير واستخراج السائل. اختبار نشاط المضاد للأوكسدة بمنهج DPPH والقياسات الامتصاصية باستخدام المطياف الضوئية أشعة فوق البنفسجية فيس (Uv-Vis). ثم تحسب نشاط المضادة للأوكسدة ب *graphad prism7*.

نتائج البحث تدل على أنتم عزلان الفطريات النابوت الداخلي من فاكهة الفراولة يعني *Trichoderma sp.* و *Fusarium sp.*، أما نتائج العزل من ورقة في عزلان يعني *Mucor sp.1* و *Mucor sp.2*. ونتائج تجريبها تدل على أن *Trichoderma sp.* يتصف إلى قوي بالنتيجة 68,09 ppm. وفي *Fusarium sp.* يتصف إلى قوي بالنتيجة 89,04 ppm. وفي *Mucor sp.1* يتصف إلى ضعيف بالنتيجة 159,7 ppm. وفي *Mucor sp.2* يتصف إلى ضعيف بالنتيجة 193,3 ppm.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada era modern seperti saat ini kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Pietta, 1999).

Menurut Percival (1998) bahwa sumber radikal bebas ada dua yaitu yang berasal dari dalam tubuh sendiri (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Sumber radikal bebas endogen berasal dari dalam sel oleh mitokondria, lisosom, *endoplasmic reticulum* dan inti sel. Sumber radikal bebas eksogen dapat berasal dari polutan, obat, makanan, radiasi, asap rokok, bahan pengawet, pestisida dan lainnya.

Reaksi dari senyawa radikal bebas ini jika berlebihan didalam tubuh dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif, seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker (Leong dan Shui, 2001). Penyakit mematikan akibat radikal bebas yang umum salah satunya adalah kanker. Kanker menjadi penyakit yang menakutkan bagi kalangan medis Indonesia bahkan dunia.

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2012, terdapat 14 juta kasus baru dan 8,2 juta orang meninggal dunia karena kanker. Sedangkan di Indonesia, menurut data Balitbang Kementerian Kesehatan tahun 2013 ada 347.792 orang dari jumlah penduduk Indonesia yang menderita kanker, dan Indonesia

menduduki peringkat teratas bersama Malaysia dan Singapura (Data Riset Kesehatan Dasar, 2013).

Penyakit lain akibat radikal bebas yang paling banyak terjadi di Indonesia adalah Diabetes Militus (DM). Indonesia kini telah menduduki ranking keempat jumlah penyandang diabetes terbanyak setelah Amerika Serikat, China, dan India. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) jumlah penyandang diabetes pada tahun 2003 sebanyak 13,7 juta orang dan berdasarkan pola pertumbuhan penduduk diperkirakan pada 2030 akan ada 20,1 juta penyandang diabetes di Indonesia (Data Riset Kesehatan Dasar, 2013). Hal ini akan berakibat buruk bagi masyarakat Indonesia jika penyakit-penyakit akibat radikal bebas tidak segera diatasi. Cara mengatasi yaitu dengan mencari obatnya. Sebagai seorang muslim, kita harus mempercayai bahwa segala penyakit pasti ada obatnya.

Pernyataan tersebut sebagaimana Sabda Nabi Muhammad SAW, bahwasanya segala penyakit merupakan kuasa Allah SWT, namun Allah SWT adalah Dzat yang maha adil dan bijaksana dalam segala hal, Dia menurunkan penyakit sekaligus menciptakan penyembuhnya (obat).

عَنْ جَابِرِ ابْنِ عَبْدِ اللَّهِ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ
: لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ أَيُّ ذُنَا لِهَعَزَّ وَجَلَّ (رواه المسلم)

Artinya: *Dari Jabir bin 'Abdullah radhiallahu 'anhu, bahwa Rasulullah Shallallahu 'alaihi wa sallam bersabda: "Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala. (HR. Muslim)*

Ibnu Qayyim Al Jauziyah (1994) mengatakan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya adalah bersifat umum, mencakup segala penyakit dan segala macam obat yang dapat menyembuhkan penderita, karena sesungguhnya Allah telah menyiapkan segala macam obat penyakit baik penyakit ringan maupun penyakit yang membahayakan, salah satunya adalah penyakit-penyakit mematikan akibat radikal bebas.

Berdasarkan penjelasan Nabi Muhammad SAW dalam hadist diatas, maka bukan berarti tidak ada cara lain yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit akibat radikal bebas. Tugas manusia, khususnya sebagai ilmuwan muslim adalah mengembangkan ilmu pengetahuan dengan meyakini penyakit akibat radikal bebas juga dapat diatasi.

Menurut Pietta (1999) bahwa manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidasi yang berasal dari dalam maupun luar tubuh. Pertahanan tubuh dari dalam berupa enzim-enzim peroksidase, katalase, glutathione, tetapi seringkali enzim tersebut tidak mencukupi akibat pengaruh lingkungan yang buruk. Pada kondisi ini manusia membutuhkan antioksidan yang diperoleh dari makanan. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan seperti vitamin C, E, A, karoten, asam-asam fenol, polifenol, dan flavonoid (Okawa *et al*, 2001).

Senyawa-senyawa antioksidan tersebut dapat kita temukan salah satunya yaitu dari tumbuhan. Dimuka bumi, Allah SWT telah menciptakan berbagai

tumbuh-tumbuhan baik yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini dijelaskan dalam firman-Nya :

رَهُمْ كَانَ وَمَا لِآيَةِ ذَلِكَ فِي إِنَّ ۖ كَرِيمٍ زَوْجِ كُلِّ مِنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَمَا الْأَرْضِ إِلَى يَرَوْنَ أَوْلَمَ
 ۝ الرَّحِيمِ الْعَزِيزِ لَهُ وَرَبِّكَ وَإِنَّ ۝ مُؤْمِنِينَ أَكْثَرَ

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah Yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang (QS. Asy Syu'araa/26: 7-9).*

Kata *أولم يروا إلى الأرض* Kata *ila/ ke* pada awal ayat ini *apakah mereka tidak melihat ke bumi*, merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya. Selanjutnya kata *(يرو)* yang artinya memperhatikan, yakni memandang seluruh bumi dengan aneka tanah dan tumbuhan dan keajaiban yang terdapat pada tumbuhan. Intrepetasi ilmiah ayat ini ditujukan sebagai perintah untuk manusia untuk meneliti.

كَمَا أَنْبَتْنَا yakni kata *(كم)* yang artinya berapakah, dalam hal ini menunjukkan suatu keanekaragaman tumbuhan yang telah diciptakan Allah. *Dhomir Na* pada ayat menunjukkan arti *Kami* yang berarti dalam penciptaan tumbuhan, Allah juga melibatkan manusia untuk mengembangbiakkan sekaligus juga merawat tumbuhan yang ada di bumi. Hal ini menunjukkan bahwa manusia selalu

dilibatkan oleh Allah dalam proses pemeliharaan dan perawatan makhlukNya. Selain itu kata *fiha* juga menunjukkan arti aneka tumbuhan dalam hal ini dapat diartikan tumbuhan yang beraneka macam itu dapat berbentuk semak, biji, pohon. Salah satu tumbuhan yang memiliki biji adalah buah strawberry (*Fragaria x ananassa*).

Menurut Shihab (2002), kata *Zauj* yang berarti *pasangan*, pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiliki putik dan benang sari sendiri atau ada pula yang membutuhkan putik dan benangsari dari tumbuhan lain. Adapun dalam bahasa ilmiah hal ini sering disebut dengan perkembangbiakan vegetatif dan generatif.

Kata *karim* dalam ayat tersebut digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang bersifat baik, dalam hal ini adalah tumbuhan. Menurut Shihab (2002), pengertian tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang dapat tumbuh subur dan bermanfaat. Adapun manfaat yang dimaksud dalam penjabaran kata *karim* di atas adalah manfaat yang dapat digunakan oleh makhluk lain seperti manusia dan hewan. Oleh manusia tumbuhan banyak dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan pokok seperti sandang, pangan dan papan, juga digunakan sebagai obat-obatan untuk kesehatan.

Berdasarkan ayat tersebut telah dijelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik yang dapat dimanfaatkan oleh manusia khususnya sebagai obat, dalam hal ini tumbuhan yang dimaksud salah

satunya adalah strawberry (*Fragaria x ananassa*). Strawberry merupakan alternatif antioksidan alami yang cukup potensial. Strawberry dapat menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki manfaat sebagai antioksidan khususnya untuk pengobatan penyakit akibat radikal bebas.

Hasil penelitian Tavarini *et al*(2008)menunjukkan bahwa strawberry selain merupakan sumber vitamin C, antosianin dan senyawa fenol, mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, sekitar 2-11 kali apel, peach, pear, anggur, tomat atau jeruk. Penelitian lebih lanjutoleh Shin *et al*(2008), diketahui antioksidan pada strawberry dapat menghambat sel hepatoma(HepG2) pada sel kanker liver.

Menurut Prof. Livy W. Gunawan, PhD dalam Kurnia (2000), bahwa biji, buah, dan daun strawberry mengandung *ellagic acid* yakni suatu senyawa fenol yang bermanfaat sebagai penghambat dan pencegah pertumbuhan sel kanker.Penelitian oleh Emsley (2007) menunjukkan bahwa konsumsi strawberry dengan kadar antioksidan fenolik yang tinggi memiliki hubungan dengan penurunan resiko terhadap penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer. Strawberry telah dibuktikan mempunyai aktivitas antioksidan melawan spesies oksigen radikal (Seeram, 2006).

Beberapa penelitian uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH menunjukkan bahwa, ekstrak segar buah strawberry mempunyai aktivitas antioksidan tinggi. Menurut penelitian Pertiwi *et al* (2014) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari 5 gram ekstrak etanol buah strawberry sebesar 81,15 ppm. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Sevan (2014), bahwa dari5 gram ekstrak etanol buah strawberry menghasilkan aktivitas antioksidan

sebesar 83,23 ppm. Sedangkan penelitian aktivitas antioksidan pada ekstrak daun strawberry yang dilakukan oleh Buricova *et al* (2011) menyatakan bahwa dari 5 gram ekstrak daun strawberry mempunyai aktivitas antioksidan sampai 88,9 %.

Kandungan metabolit sekunder juga terdapat pada mikroorganisme yang tumbuh di dalam jaringan tumbuhan strawberry, salah satu mikroorganismenya adalah fungi endofit. Kemampuan fungi endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inang sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya kedalam fungi endofit (Radji, 2005). Hal tersebut juga sesuai dengan pendapat Yulianti (2012), mikroba endofit juga menghasilkan berbagai macam antioksidan, asam fenol dan derivatnya. Mikroba endofit dapat berupa bakteri atau jamur, tetapi saat ini yang lebih banyak dieksplorasi adalah jamur-jamur endofit.

Hubungan antara mikroba endofit dan tumbuhan inangnya merupakan suatu bentuk hubungan simbiosis mutualisme (Haniah, 2008). Segi efisiensi jika dimanfaatkan sebagai obat sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya sehingga dapat menghemat waktu produksi dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala besar tanpa menggunakan tempat yang luas (Nursulistyarini, 2014).

Penelitian mengenai eksplorasi fungi endofit dalam menghasilkan senyawa antioksidan juga telah dilakukan. Beberapadiantaranya yaitu penelitian oleh Widowati (2016) menunjukkan bahwa fungi endofit *Colleototricum* sp yang diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) mempunyai aktivitas

antioksidan sebesar 78,81%. Penelitian oleh Pawle dan Singh (2014), menunjukkan bahwa fungi endofit *Nigrospora* sp. yang diisolasi dari tanaman *Ginkgo biloba* memiliki nilai IC_{50} sebesar 9.28 ppm. Fungi endofit *Phomopsis* sp. dari tanaman obat *Mesua ferrea* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 31.25 ppm (Jayanthi *et al.*, 2011). Fungi endofit *Colletotrichum* sp dari tanaman kina (*C. calisaya* Wedd.) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari filtrat yaitu sebesar 837,143 ppm dan biomassa sebesar 1900,46 ppm (Septiawan, 2014). Penelitian Hipol *et al* (2014), mendapatkan 2 fungi endofit dari buah strawberry yang menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu isolat *Aspergillus awamori* DT11 sebesar 74,15% dan *Corynespora cassiicola* DT13 sebesar 77,3%.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dipaparkan diatas, dapat diketahui bahwa fungi endofit dapat menghasilkan senyawa antioksidan sama seperti pada tanaman inangnya. Dalam hal ini beberapa penelitian juga telah membuktikan bahwa buah dan daun strawberry mengandung senyawa antioksidan yang cukup tinggi, namun penelitian mengenai potensi fungi endofit yang diisolasi dari buah dan daun strawberry masih belum banyak dilakukan khususnya di Indonesia, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi fungi endofit yang mempunyai kemampuan sebagai penghasil senyawa antioksidan dengan menghitung aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan diatas, maka rumusan masalah yang perlu diteliti sebagai berikut:

1. Apa jenis fungi endofit yang dapat diisolasi dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) ?
2. Apakah senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) mempunyai kemampuan sebagai antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas. Maka penelitian ini bertujuan sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui dan mendapatkan jenis fungi endofit yang diisolasi dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*).
2. Untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) sebagai antioksidan.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang melandasi penelitian ini sebagai berikut:

1. Terdapat beberapa jenis fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*).

2. Senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) mempunyai kemampuan sebagai antioksidan.

1.5 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang diharapkan peneliti dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang keberadaan fungi endofit pada buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*).
2. Memberi pengetahuan dibidang mikrobiologi mengenai potensi fungi endofit dalam menghasilkan senyawa antioksidan.
3. Memberi pengetahuan mengenai aktivitas antioksidan yang dihasilkan fungi endofit.
4. Senyawa antioksidan yang didapat, diharapkan nantinya dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat untuk menanggulangi penyakit akibat radikal bebas

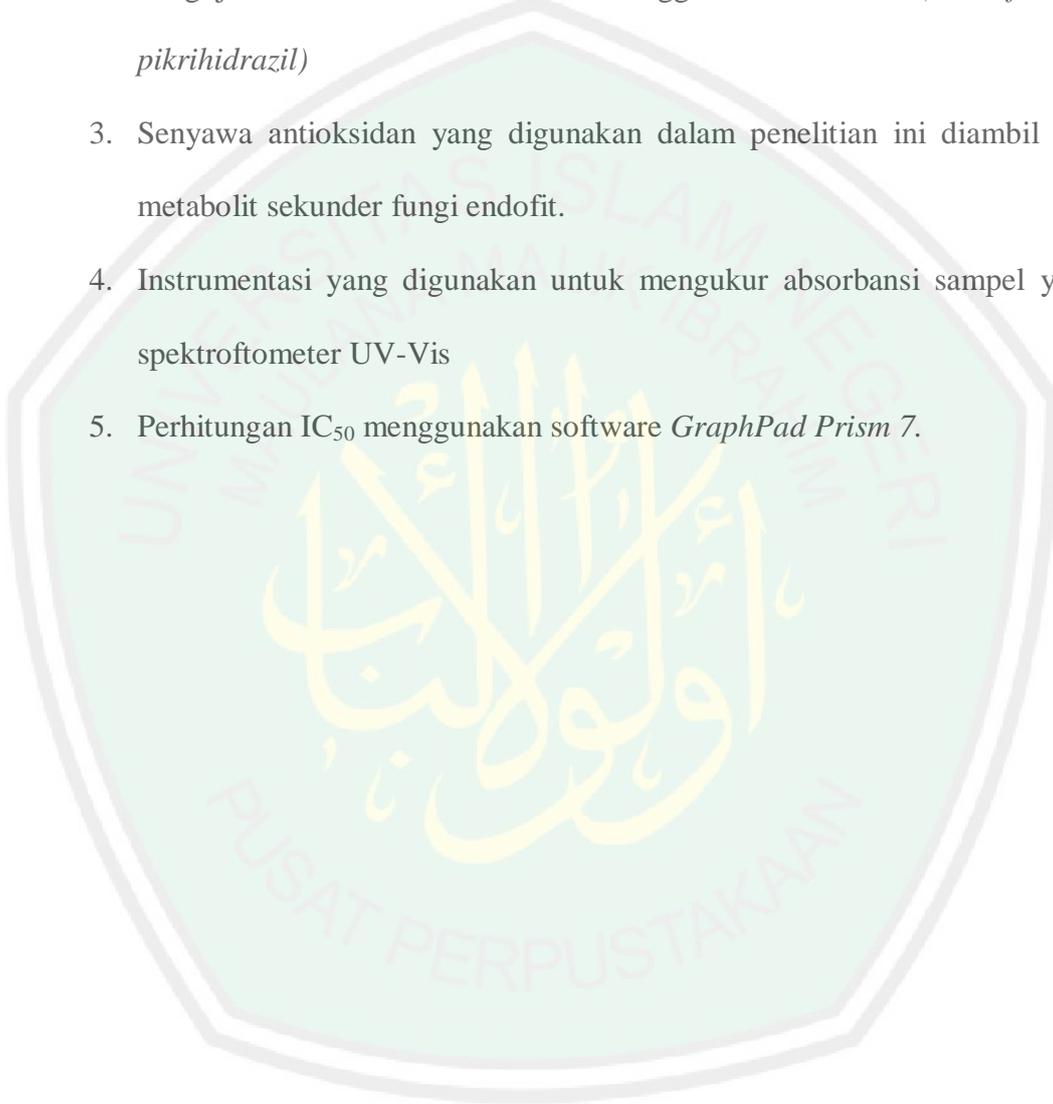
1.6 Batasan Masalah

Untuk mendapatkan penelitian yang lebih terarah, maka penelitian ini perlu dibatasi sebagai berikut:

1. Fungi endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*), dengan varietas Hollybrid yang

diperoleh dari kebun petik strawberry di daerah Pandan, Pandanrejo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu Malang, Jawa Timur.

2. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (*1-1-difenil-2-pikrihidrazil*)
3. Senyawa antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari metabolit sekunder fungi endofit.
4. Instrumentasi yang digunakan untuk mengukur absorbansi sampel yaitu spektrofotometer UV-Vis
5. Perhitungan IC_{50} menggunakan software *GraphPad Prism 7*.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Strawberry (*Fragaria x ananassa*)

2.1.1 Kajian Islam Tentang Strawberry (*Fragaria x ananassa*)

Allah SWT telah menciptakan alam semesta beserta isinya , salah satunya adalah tanaman strawberry (*Fragaria x ananassa*) yang bermanfaat bagi manusia. Allah menciptakan tanaman di muka bumi untuk dimanfaatkan sebagaimana mestinya dengan sebaik-baiknya. Menurut Mahran (2006), didalam Al Qur'an telah disebutkan bahwa sejumlah buah-buahan yang menurut ilmu pengetahuan modern memiliki khasiat untuk mencegah beberapa penyakit. Bahkan tanaman yang dianggap liar pun juga mempunyai potensi dalam bidang farmakologi.

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik, yang darinya dapat dimanfaatkan oleh manusia dalam kehidupan, selain itu manusia juga dapat mempelajari bagaimana kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan segala hal. Sebagaimana Firman-Nya dalam Al Quran :

هُنَّ خُرُوجُ خَضِرٍ مِّنْهُ فَأَخْرَجْنَا شَيْءًا كُلِّ نَبَاتٍ بِهِ فَأَخْرَجْنَا مَاءَ السَّمَاءِ مِنْ أَنْزَلِ الَّذِي وَهُوَ
لُرْمَانٍ وَالزَّيْتُونَ أَعْنَابٍ مِّنْ وَجَنَّتِ دَانِيَةُ قِنَوَانٌ طَلَعَهَا مِنَ النَّخْلِ وَمِنْ مُتْرَا كِبَا حَبَّامِدِ
مُؤْمِنُونَ لِقَوْمٍ لَّا يَتَذَكَّرُ فِي إِنْ وَيَنْعِهِ أَثْمَرًا إِذَا أَثْمَرَهُ إِلَى أَنْظُرُوا مُتَشَبِهٍ وَغَيْرِ مُشْتَبِهًا وَ



Artinya : *Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (QS. Al-An'am/6: 99).*

Kata (فأخرجنا) bermakna “lalu Kami tumbuhkan” kemudian (به) bermakna “dengan air itu” yakni dengan air hujan itu , dan kata (نبات كل شيء) bermakna “segala macam tumbuh-tumbuhan” , pada ayat tersebut menunjukkan adanya sebuah proses dalam penciptaan tumbuhan (Al-Mahally, 1990). Dalam konteks biologi dikenal dengan istilah fotosintesis, dimana dalam proses ini tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor dari alam untuk menunjang proses pertumbuhannya, satu diantara faktor tersebut adalah air. Menurut Kimball (2002) bahwa proses fotosintesis dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain air (H₂O), konsentrasi CO₂, suhu, umur daun, translokasi karbohidrat, dan cahaya. fotosintesis adalah proses penyusunan dari zat organik H₂O dan CO₂ menjadi senyawa organik yang kompleks yang memerlukan cahaya.

Kata (حلمتراكبا) bermakna “butir atau biji-bijian yang tersusun secara berantai”. Secara tersurat ayat tersebut tidak menyebutkan kata keanekaragaman morfologi secara langsung, tetapi karakteristik dari aspek morfologi suatu tumbuhan disebutkan dalam ayat ini yaitu dengan makna biji-bijian yang banyak. Biji sebagai bentuk morfologi suatu tanaman juga memiliki perbedaan yang menjadi ciri khas suatu tanaman. Perbedaan tersebut dapat diketahui dengan

adanya perbedaan warna, bentuk biji serta susunan biji tersebut (Al-Mahally, 1990). Pada umumnya biji terdiri dari kulit biji (*spermodermis*), tali pusar (*fenicullus*) dan isi biji (*nucleus seminis*) (Tjitrosoepomo, 1992).

Ayat diatas menunjukkan bahwa bagaimana kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan berbagai macam tumbuhan, dan dalam penciptaannya terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi hambaNya yang beriman. Dalam hal ini tanda-tanda kekuasaan Allah adalah kewajiban setiap muslim untuk mempelajarinya. Dalam *Tafsir Al Maraghi* (1992) memberi penjelasan tentang ayat ini. Sesungguhnya Allah menumbuhkan apa yang kalian tanam, berupa benih tanaman yang dituai dan biji buah; juga membelah dengan kekuasaan dan perhitungannya, dengan menghubungkan sebab dan musabab. Dia mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang tidak berbatang atau berbatang beserta manfaatnya.

Termasuk tanaman strawberry (*Fragaria x ananassa*), dimana hampir seluruh bagian dari tanaman ini dapat dimanfaatkan oleh manusia khususnya sebagai obat. Menurut Prof. Livi W. Gunawan, PhD bahwa biji, buah, dan daun strawberry mengandung *ellagic acid* yakni suatu senyawa fenol yang bermanfaat sebagai penghambat dan pencegah pertumbuhan sel kanker (Kurnia, 2000). Sedangkan akar strawberry mengandung zat antiradang, dengan meminum air rebusan akar tersebut bisa memulihkan pembengkakan akibat nyeri sendi dan asam urat. Selain itu akar tanaman strawberry juga dapat digunakan sebagai obat diabetes (Saraswati, 2005).

Berdasarkan pernyataan tersebut dapat diketahui, bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Karena sesungguhnya Allah SWT telah menyiapkan obat untuk segala macam penyakit. Sebagaimana Sabda Nabi Muhammad SAW :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمَهُ مَنْ عِلِمَهُ وَجَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.” (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadits ini dalam Zawa'id-nya. Lihat takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad, 4/12-13) (Farooqi,2005).

Hadits diatas menunjukkan bahwa sesungguhnya segala macam penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT pasti ada obatnya. Dalam hadist tersebut juga dijelaskan bahwasanya obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya, dalam hal ini manusia dituntut untuk mengembangkan ilmu pengetahuannya dalam menemukan setiap obat yang sudah diturunkan oleh Allah SWT untuk segala macam penyakit. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuannya, maka manusia tidak akan pernah tahu bahwa Allah sudah menyediakan berbagai macam obat khususnya yang diperoleh dari tumbuhan sebagai obat alami untuk berbagai penyakit. Dalam hal ini salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat adalah strawberry.

2.1.2 Deskripsi dan Sejarah Strawberry

Strawberry adalah tanaman dengan famili *Rosaceae*. Tanaman strawberry telah dikenal sejak zaman Romawi, tetapi bukan jenis yang dikenal saat ini. Tanaman strawberry merupakan tanaman buah berupa herba yang ditemukan pertama kali di Chili, Amerika.. Strawberry yang ditemukan di pasar swalayan ialah hibrida yang dihasilkan dari persilangan *Fragaria virginiana L. var Duchesne* asal Amerika Utara dengan *Fragaria Chiloensis L. var Duchesne* asal Chili. Persilangan itu menghasilkan hybrid yang merupakan strawberry moderen (komersil) *Fragaria xannanassa var Duchesne* (Darwis, 2007).

Strawberry memiliki struktur akar tanaman yang terdiri atas pangkal akar, batang akar, ujung akar, bulu akar serta tudung akar. Tanaman strawberry berakar tunggang panjangnya dapat mencapai 100 cm, akan tetapi pada umumnya hanya menembus lapisan atas tanah sedalam 15 cm – 45 cm. Bunga strawberry tersusun sebagai bunga majemuk yang berukuran panjang, terletak pada ujung tanaman. Batang tanaman strawberry beruas-ruas pendek dan berbuku-buku, banyak mengandung air. Buahnya mengandung banyak air dan serat, memiliki banyak biji kecil pada bagian buahnya. Buah umumnya berbentuk kerucut hingga bulat, buah yang muda berwarna hijau namun setelah tua berubah menjadi warna merah atau kuning kemerah-merahan. Biji strawberry berukuran kecil dan terletak diantara daging buah (Giampieri *et al*, 2012).

Rasa strawberry berasal dari kombinasi fruktosa, glukosa dan sukrosa, asam organic (asam sitrat dan asam fenolik) serta tannin bercampur dengan aroma senyawa yang terkandung di dalamnya (Emsley, 2007). Kualitas

strawberry ditentukan oleh rasa (manis-agak asam-asam), kemulusan kulit dan luka mekanis akibat benturan atau hama-penyakit (Amarta, 2009).

Strawberry adalah tanaman subtropis yang dapat beradaptasi dengan baik di dataran tinggi tropis yang memiliki temperatur 17–20°C dengan ketinggian tempat 1.000-1.500 m dpl (Rukmana, 1998). Di Indonesia, tanaman strawberry biasanya diusahakan di daerah dengan ketinggian > 600 m dpl, dengan suhu udara siang hari 22-25°C dan malam hari 14-18°C (Kurnia, 2005). Secara umum, berdasarkan musim berbuahnya, strawberry dibagi menjadi tiga jenis yaitu *ever-bearers* yang berbuah sepanjang tahun, *april-bearers* (berbuah hanya pada bulan April), dan *june-bearers* yang hanya memproduksi sekali (pada bulan Juni) (Budiman, 2010).

Buah *strawberry* memiliki keunikan dibandingkan buah lain, yakni biji buah terletak di bagian luar buah berbentuk sangat kecil dan berupa bintik-bintik berwarna kuning. Buah ini mengandung Vitamin C yang baik bagi tubuh manusia. Kandungan vitamin C dalam satu buah strawberry lebih banyak dibanding dengan buah jeruk, karena buah strawberry memberikan 94 miligram vitamin C atau 1,5 kali kebutuhan vitamin C harian (Rohmayati, 2013).



a



b

Gambar 2.1. Morfologi Daun dan Buah Strawberry
Keterangan. a. Daun Strawberry, b. Buah Strawberry (Saraswati, 2005).

Tanaman strawberry diklasifikasikan sebagai berikut (Giampieri, *et al.*,2012):

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)

Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan berbiji)

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Discotyledonae* (biji berkeping dua)

Subkelas : *Rosidae*

Ordo : *Rosales*

Famili : *Rosaceae* (suku mawar-mawar)

Genus : *Fragaria*

Spesies : *Fragaria x ananassa*



Gambar 2.2 Bagian-bagian Morfologi Strawberry
Keterangan. *a*, crown and leaf bases; *b*, stolon (runner); *c*, first (blind) runner node; *d*, daughter plant; *e*, secondary runner (Kevin, 2009).

2.1.3 Komposisi Nutrisi Strawberry

Strawberry mengandung berbagai vitamin, mineral, protein, lemak dan karbohidrat. Buah strawberry kaya akan pigmen warna antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan, kaya akan vitamin C dan potassium (Giampieri,*et al*, 2012). Kandungan nutrisi pada 100 gram buah strawberry segar dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1. Kandungan nutrisi (gizi) dalam 100 gram strawberry segar

No	Kandungan Gizi	Proporsi jumlah	
1	Kalori (kal)	37,00*)	37,00**)
2	Protein (g)	0,80	0,80
3	Lemak (g)	0,50	0,50
4	Karbohidrat (g)	8,30	8,30
5	Kalsium (mg)	28,80	28,80
6	Fosfor (mg)	27,00	27,00
7	Zat Besi (mg)	0,80	0,80
8	Vitamin A (SI)	60,00	60,00
9	Vitamin B1 (mg)	0,30	0,30
10	Vitamin B2 (mg)	-	0,07
11	Niasin (mg)	-	0,03
12	Vitamin C (mg)	60,00	60,00
13	Air (g)	89,90	-
14	Bagian dapat dimakan (Bdd, %)	96,00	-

Keterangan : *) Direktorat Gizi Depkes RI, (1981)

**) (Rukmana, 1998)

2.1.4 Kandungan Kimia Strawberry

Fitokimia yang terkandung dalam tanaman strawberry di antaranya hydrolyzable tannins (ellagitannins, gallotannins, dan asam ellagic), antosianin, flavonols, turunan asam hidroksisinat dan esternya, dan flavanols (katekin)

Flavonol buah strawberry mengandung kuersetin rutinosida, kuersetin glukosida, kuersetin glukoronida, dan kaempferol glukoronida. Buah strawberry mengandung beberapa senyawa antosianin yaitu pelargonidin diglukosida, sianidin glukosida, pelargonidin glukosida, pelargonidin rutinosida (Seeram *et al.*, 2006). Beberapa kandungan kimia strawberry adalah sebagai berikut:

a. Asam Ellagic

Asam ellagic merupakan senyawa fenolik ilmiah yang berfungsi sebagai antioksidan, ditemukan di beberapa famili tanaman, seperti *Roseaceae*, *Fagaceae*, *Saxifragaceae*, *Cunomirutceae* dan *Myrothamnaceae*. Jenis tanaman yang banyak mengandung *ellagic acid* diantaranya strawberry dan apel. Pada strawberry, senyawa tersebut terdapat pada biji, daun, dan daging buah. Senyawa fenolik ini juga dikenal secara alami sebagai antimutagen, antikarsinogen dan anti inflamasi. *Ellagic acid* dalam strawberry berkisar 0,43-4,46 mg per gram berat kering (Astawan, 2008).

Asam ellagic, mempunyai kemampuan antioksidan, anti mutagenik dan anti kanker. Penelitian telah menunjukkan aktivitas anti kanker pada sel-sel kanker pada payudara, oesophagus, kulit, colon, prostat dan pancreas. Lebih spesifik, asam ellagic mencegah penghancuran gen P53 oleh sel-sel kanker. Asam ellagic dapat berikatan dengan molekul penyebab kanker, kemudian membuat molekul tersebut inaktif. Efek pemberian asam ellagic pada hepar tikus dan mukosa esophagus terjadi melalui proses dalam sitokrom P450 dan enzim fase II, dimana asam ellagic menyebabkan penurunan pada aktivitas sitokrom mukosa jaringan hepar dan peningkatan aktivitas enzim fase II hepar, kemudian memacu

kemampuan target jaringan untuk mendetoksifikasi metabolit reaktif (Ahn *et al.*, 1996).

Berdasarkan bukti klinis bahwa asam ellagic dapat menghambat kanker prostat dan servik. Penelitian sebelumnya menunjukkan asam ellagic muncul di jaringan servik setelah pemberian secara oral raspberry merah. Asam ellagic tidak hanya mencegah kanker. Golongan *beri* juga dapat mencegah terjadinya serangan jantung karena kandungan senyawa salisilat alami seperti yang terkandung dalam aspirin (Nixon, 2003).

Asam ellagic, secara farmakologis aktif, telah dibuktikan dapat mengontrol perdarahan pada hewan dan manusia. Hal ini dimungkinkan terjadi oleh karena kemampuan asam ellagic untuk mengaktifkan faktor Hageman. Pada hewan coba menunjukkan bahwa raspberry merah yang kaya akan asam ellagic dapat mengurangi kadar glukosa darah, sehingga mungkin dapat membantu penanganan diabetes. Ellagitannin juga dipercaya oleh para herbalist juga efektif dalam mengobati diare, mual, muntah dan *morning sickness* pada kehamilan (Nixon, 2003).

b. Antosianin

Antosianin berasal dari bahasa Yunani yaitu “anthos” yang berarti bunga dan “kyanos” yang berarti biru gelap dan termasuk senyawa flavonoid. Senyawa ini merupakan sekelompok zat warna berwarna kemerahan yang larut di dalam air dan tersebar sangat luas di dunia tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini adalah penyebab hampir semua warna merah, oranye, ungu, dan biru. Warna ini biasanya tidak dibentuk oleh satu pigmen, namun seringkali dibentuk oleh lebih dari satu

kombinasi atau sistem dari pigmen atau senyawa tersebut. Sebagai contoh *blueberries* terdiri dari 10-15 pigmen yang berbeda. Umumnya buah-buahan dan sayur-sayuran terdiri dari 4-6 pigmen (Kumalaningsih, 2007).

Antosianin adalah pigmen yang memberi warna merah, biru, ungu, violet dan merah keunguan pada buah beri juga pada buah lain, sayuran dan biji. Seperti flavanoid yang lain, antosianin terdapat secara alami dalam buah dan sayuran sebagai glikosid (Seeram *et al.*, 2006).

c. Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air. Secara alami bentuk vitamin C adalah isomer-L, isomer ini memiliki aktivitas lebih besar dibandingkan dengan bentuk isomer-D. Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja dengan menjadi donor electron, dengan cara memindahkan satu electron ke senyawa logam Cu. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia interseluler dan ekstraseluler. Vitamin C dapat menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer electron ke dalam tokoferol teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Winarsi, 2007)

Antioksidan vitamin C mampu bereaksi dengan radikal bebas, kemudian mengubahnya menjadi radikal askorbil. Senyawa radikal ini akan segera berubah menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Asam askorbat dapat bereaksi dengan oksigen teraktivasi, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil (Winarsi, 2007).

d. Ellagitannin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin terhidrolisis (*hydrolysable tannins*). Tanin terhidrolisis merupakan derivat dari asam galat yang teresterkan. Berdasarkan strukturnya, tanin ini dibedakan menjadi dua kelas yaitu, gallotanin dan ellagitanin. Perbedaan struktur keduanya adalah adanya ester asam galat pada gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) pada ellagitanin. Kedua ester asam tersebut berikatan dengan glukosa. Ellagitanin yang dihidrolisis akan menghasilkan asam elagat. Oksidasi perangkaian (*oxidative coupling*) pada gugus galloil dari gallotanin akan menghasilkan ellagitanin (Mullen *et al.*, 2002).

Secara alami ellagitanin banyak terkandung pada buah, herba, dan biji. Kandungan ellagitanin yang melimpah banyak ditemukan pada buah-buahan jenis beri seperti strawberry, raspberi, dan blackberi (Hannum, 2004). Ellagitanin yang terkandung pada buah strawberry terbukti memiliki efek antivirus terhadap HBV dengan mekanisme penghambatan sekresi antigen HBV pada infeksi hepatosit. Galloilasi (penambahan gugus galloil), perbedaan ikatan interflavan, dan sifat stereokimia dari gugus hidroksil berpengaruh secara kuat terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan virus. Efek penghambatan ini berkaitan dengan pencegahan terbentuknya kompleks enzim-asam nukleat (Talwar *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian Nutan (2013) dari National Institute of Immunology New Delhi, diketahui bahwa ellagitanin yang terkandung pada tanaman *Lagostremia sp* memiliki aktivitas sebagai inhibitor terhadap enzim HIV Reverse Transkriptase. Penelitian lain juga menunjukkan hasil yang sama yaitu aktivitas ellagitanin yang terkandung pada daun *Terminalia triflora* dan *Cammelia sinensis* sebagai inhibitor terhadap enzim HIV Reverse Transkriptase (Martino, *et al.*, 2009).

2.1.5 Manfaat Strawberry

Penelitian menunjukkan bahwa konsumsi strawberry dengan kadar antioksidan fenolik yang tinggi memiliki hubungan dengan penurunan resiko terhadap penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer (Emsley, 2007). Strawberry telah dibuktikan mempunyai aktivitas anti oksidan melawan spesies oksigen radikal seperti ROO, O₂⁻, H₂O₂, OH dan 1O₂ (Seeram, 2006).

Dua studi yang dipresentasikan pada Konferensi dan Pameran *American Dietetic Associaton Food and Nutrition* menunjukkan bahwa selain rendah lemak dan kalori, strawberry secara alami mengandung serat, vitamin C, asam folat, kalium, dan antioksidan dalam jumlah tinggi. Kandungan tersebut menjadikan strawberry sebagai alternative yang bagus untuk meningkatkan kesehatan jantung, mengurangi resiko terserang beberapa jenis kanker, dan memberikan dorongan positif terhadap kesehatan tubuh (Kurnia, 2005).

Dr. Gene Spiller dari *Nutrition and Health Research Center*, menyajikan data bahwa orang yang mengonsumsi sekitar delapan buah strawberry setiap hari

atau 50 kalori, kadar asam folat darahnya meningkat dan tekanan sistolik darahnya menurun. Penemuan ini memperkuat pentingnya strawberry sebagai bagian dari diet jantung sehat. Sifat strawberry yang menurunkan tekanan sistolik darah dapat mengurangi resiko sakit jantung yang berhubungan dengan tekanan darah tinggi. Asam folat menurunkan kadar homosistein dalam darah. Homosistein adalah asam amino yang dalam jumlah besar dapat menghambat arteri. Sebagai tambahan, strawberry mengandung antioksidan dalam jumlah besar, seperti asam elagat dan antosianin, yakni pigmen merah dalam strawberry (Kurnia, 2005)

Penelitian Dr. Victor Fulgoni dari *NutritionImpact LLC* juga menguatkan manfaat strawberry bagi kesehatan. Hasil penelitian, orang yang mengonsumsi strawberry memiliki kadar folat darah lebih tinggi, kadar homosistein lebih rendah, dan kecenderungan tekanan darah lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak mengonsumsi. Data Dr. Fulgoni menunjukkan bahwa orang yang mengonsumsi strawberry memiliki kecenderungan asupan serat makanan, folat, kalium, dan vitamin C lebih tinggi dibandingkan yang tidak mengonsumsi. Selain itu, strawberry juga bisa membantu meningkatkan fungsi ingatan dan membantu mengatasi peradangan sendi (*rheumatoid arthritis*) atau reumatik (Kurnia, 2005)

Menurut prof Livy W. Gunawan, PhD disamping mengandung berbagai vitamin dan mineral, biji (achene) dan daun strawberry juga mengandung *ellagic acid* (asam elagat), yakni suatu senyawa fenol yang bermanfaat sebagai penghambat dan pencegah pertumbuhan sel kanker (Kurnia,2005).

2.2 Fungi

Fungi adalah mikroorganisme eukariotika dan sebagian besar adalah eukariotika multiseluler yang mempunyai ciri-ciri spesifik antara lain: mempunyai inti sel, membentuk spora, tidak berklorofil, saprofit, dapat berkembang biak secara aseksual maupun seksual. Perbedaan utama antara organisme yang tergolong fungi, misalnya kapang dan khamir (ragi) yaitu kapang merupakan fungi membentuk filament (miselium) sedangkan khamir (ragi) merupakan fungi bersel tunggal tanpa filamen (Campbell, 1999).

Tubuh fungi bersel banyak terdiri atas benang-benang halus yang disebut hifa. Kumpulan hifa membentuk anyaman yang disebut miselium. Bentuk fungi mirip dengan tumbuhan, tetapi fungi tidak memiliki daun dan akar sejati. Selain itu, fungi tidak memiliki klorofil sehingga tidak mampu berfotosintesis. Dengan demikian, fungi merupakan organisme heterotrop, yaitu organisme yang cara memperoleh makanannya dengan mengabsorpsi nutrisi dari lingkungannya atau substratnya. Sebelum mengabsorpsi makanan yang masih berupa senyawa kompleks, ia mensekresikan enzim hidrolitik ekstraseluler atau ferment untuk menguraikannya lebih dahulu di luar selnya (Ediningsari, 2006).

Sifat-sifat morfologis dari fungi antara lain (Winarsih, 2011):

1. Pembentukan hifa dan miselia

Hifa adalah benang-benang yang dibentuk oleh kapang atau jamur, sedangkan massa yang dibentuk oleh hifa disebut miselia. Secara mikroskopik hifa pada kapang atau jamur dapat dibedakan atas dua golongan yaitu hifa yang berseptata dan hifa yang tidak berseptata. Hifa berseptata dapat dibedakan menjadi tiga

macam yaitu hifa vegetatif (mengambil zat-zat makanan), hifa udara (pengambilan oksigen) dan hifa produktif (membentuk alat-alat reproduksi).

2. Struktur dan bagian yang berproduksi

Fungi dapat tumbuh dari miselia, namun reproduksinya terutama oleh adanya spora yang bersifat aseksual disamping yang bersifat seksual. Spora yang bersifat aseksual dihasilkan oleh kapang dalam jumlah yang banyak, kecil-kecil dan tahan terhadap suasana kering. Spora aseksual dapat dibedakan atas empat jenis yaitu konidia, arthrospora (oidia), sporangio-spora dan khlamidospora. Spora seksual dapat dibedakan berdasarkan atas tempat pembentukan dan jenis reproduksinya.

2.2.1 Fungi Endofit

Sekitar 300.000 spesies tanaman diketahui merupakan inang endofit (Strobel *et al.*, 2004). Mikroba endofit dapat berupa bakteri atau fungi, tetapi saat ini yang lebih banyak dieksplorasi adalah fungi endofit (Strobel dan Daisy, 2003). Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat di dalam suatu sistem jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Berbagai senyawa fungsional dapat dihasilkan oleh fungi endofit. Senyawa yang dihasilkan fungi endofit tersebut dapat berupa senyawa anti kanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain-lain (Strobel *et al.*, 2004).

Fungi endofitik mempunyai hubungan mutualistik dengan tanaman inangnya yaitu proteksi terhadap herbivor, serangan serangga atau jaringan yang

patogen (Clay, 1988). Dikatakan oleh Petrini (1992), bahwa fungi endofitik yang hidup di dalam tanaman tidak merugikan inangnya. Telah diketahui pula bahwa hubungan antara mikrobia endofitik dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikrobia yang memiliki berbagai jenis bioaktif (Melliawati *et al.*, 2006).

Segala sesuatu di bumi ini diciptakan bukan tanpa tujuan melainkan semua diciptakan dengan tujuan tertentu. Akan tetapi tidak semua tujuan tersebut diketahui oleh semua manusia sehingga harus dipelajari terlebih dulu. Allah SWT berfirman dalam surat Al - Baqarah ayat 29 :

سَبْعَ فَسَوْنَهُنَّ السَّمَاءِ إِلَىٰ أَسْتَوَىٰ ثُمَّ جَمِيعًا الْأَرْضِ فِي مَالِكُمْ خَلَقَ الَّذِي هُوَ
عَلِيمٌ شَيْءٍ بِكُلِّ وَهُوَ سَمَوَاتٍ ﴿٢٩﴾

Artinya: “Dialah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu” (Q.S Al-Baqarah/1:: 29).

Menurut *Tafsir Al-Qur'an Jalalain* (2010: 3) oleh Al Imam Jalaluddin menafsirkan bahwa Allah-lah yang telah menciptakan bumi beserta isinya dan Allah menciptakan langit, agar orang-orang memperoleh manfaat dan mengambil perbandingan darinya. Hanyalah Allah yang mampu menciptakan semua itu dari mulai pertama. Allah lebih besar dan lebih hebat daripada kamu (manusia), karena Allah mampu menghidupkan kamu (manusia) kembali.

Menurut *Tafsir Ibnu Katsier Jilid 1* (1988: 78) bahwa dalam memanfaatkan benda-benda di bumi ini dapat ditempuh melalui salah satu dari dua cara, yaitu: memanfaatkan benda-benda itu dalam kehidupan jasadi untuk memberikan potensi pada tubuh dan dengan memikirkan dan memperhatikan benda-benda yang tidak dapat diraih oleh tangan secara langsung, untuk digunakan sebagai bukti tentang kekuasaan penciptanya dan dijadikan santapan rohani. Dengan ayat ini kita mengetahui bahwa pada dasarnya memanfaatkan segala benda di bumi ini dibolehkan. Tidak seorangpun mempunyai hak mengharamkan sesuatu yang telah dihalalkan oleh Allah kecuali dengan izin-Nya.

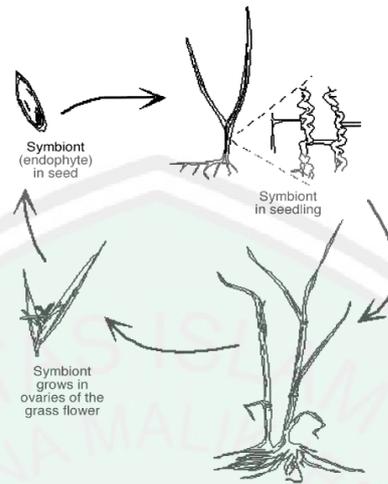
Berdasarkan ayat Al-Qur'an beserta didukung dengan dua tafsir, dapat diambil pelajaran bahwa diperbolehkan untuk memanfaatkan semua ciptaan Allah. Semua yang diciptakan oleh Allah mempunyai manfaat. Memanfaatkan benda-benda yang berukuran kecil agar memberikan potensi pada tubuh. Walaupun keberadaan fungi endofit tidak bisa dilihat secara kasat mata, namun fungi endofit ini ada yang bermanfaat bagi kehidupan manusia, salah satunya adalah fungi endofit yang dapat menghasilkan senyawa antioksidan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat.

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan tanaman inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba, salah satunya fungi endofit yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam fungi endofit (Hidayati, 2010).

Ditinjau dari sisi taksonomi dan ekologi, fungi ini merupakan organisme yang sangat heterogen. Menurut Worang (2003) menggolongkan fungi endofit dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina. Keragaman pada jasad ini cukup besar seperti pada Loculoascomycetes, Discomycetes, dan Pyrenomycetes. Fungi endofit meliputi genus *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Monochaetia*, dan lain-lain.

Fungi endofit dimasukkan dalam famili *Balansiae* yang terdiri dari 5 genus yaitu *Atkinsonella*, *Balansiae*, *Balansiopsis*, *Epichloe* dan *Myriogenospora*. Genus *Balansiae* umumnya dapat menginfeksi tumbuhan tahunan dan hidup secara simbiosis mutualistik dengan tumbuhan inangnya. Dalam simbiosis ini, fungi dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis serta melindungi tumbuhan inang dari serangan penyakit, dan hasil dari fotosintesis dapat digunakan oleh fungi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya (Worang, 2003).

Menurut Kanti (2005), fungi endofit bersifat simbiosis mutualisme dengan tanaman inangnya. Manfaat yang diperoleh dari tanaman inang yakni meningkatkan laju pertumbuhan tanaman inang, tahan terhadap serangan hama, penyakit dan kekeringan. Selain itu, fungi endofit dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman untuk proses fotosintesis dan hasil fotosintesis dapat digunakan oleh fungi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Hubungan yang erat antara fungi endofit dan tanaman inangnya yakni transfer materi genetik satu dengan lainnya. Adapun simbiosis mikroba endofit dengan tanaman, dapat dilihat pada gambar 2.3 berikut ini:



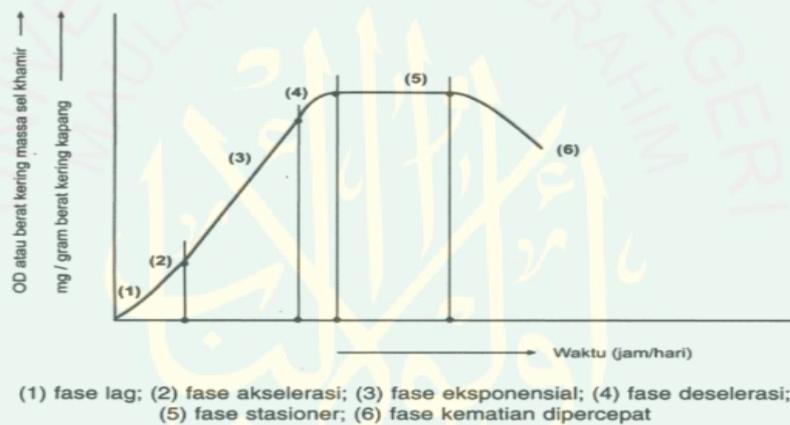
Gambar 2.3. Simbiosis Mikroba Endofit dengan Tanaman (Tan dan Zou, 2001).

2.2.2 Fase Pertumbuhan Fungi

Pertumbuhan fungi yaitu pertambahan volume sel, karena adanya penambahan protoplasma dan senyawa asam nukleat yang melibatkan sintesis DNA dan pembelahan mitosis. Untuk mengetahui fase pertumbuhan mikroorganisme dapat dijadikan suatu kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan mempunyai beberapa fase, antara lain (Gandjar, 2006) :

1. Fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan, pembentukan enzim-enzim untuk mengurangi substrat.
2. Fase akselerasi , yaitu fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif.
3. Fase eksponensial, merupakan fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak, aktivitas sel sangat meningkat dan fase ini merupakan fase yang penting dalam kehidupan fungi.

4. Fase deselerasi yaitu waktu sel-sel mulai kurang aktif membelah, kita dapat memanen biomassa sel atau senyawa-senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh sel-sel.
5. Fase stationer, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang. Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang horizontal.
6. Fase kematian dipercepat, jumlah sel-sel yang mati atau tidak aktif sama sekali lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup.



Gambar 2.4. Kurva Pertumbuhan Fungi (Gandjar, 2006).

2.2.3 Fungi Endofit Menghasilkan Metabolit Sekunder

Fungi endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, merupakan peluang untuk memproduksi metabolit sekunder dari fungi endofit tersebut. Apabila fungi endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang

kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk dipanen (Radji, 2005).

Sunarmi (2010), menambahkan bahwasannya mikroorganisme endofit akan mengeluarkan suatu metabolit sekunder yang merupakan senyawa antibiotik itu sendiri. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh suatu mikroba, tidak untuk memenuhi kebutuhan primernya (tumbuh dan berkembang) melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme endofit merupakan senyawa antibiotik yang mampu melindungi tanaman dari serangan hama insekta, mikroba patogen, atau hewan pemangsanya, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol.

Fungi endofit yang diisolasi dari tumbuhan akan memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan menggunakan proses fermentasi (Hidayahti, 2010).

Mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi atau jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan bakteri. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berpotensi sebagai antibiotik disebabkan karena

aktivitasnya yang besar dalam membunuh mikroba-mikroba patogen, selain mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya (Hidayati, 2010).

Menurut Noverita dan Sinaga (2009), mikroba endofit dapat berupa bakteri atau jamur, tetapi saat ini yang lebih banyak dieksplorasi adalah jamur-jamur endofit. Salah satu fakta yang menarik tentang mikroba endofit adalah kemampuannya untuk memproduksi senyawa-senyawa bioaktif, baik yang sama dengan inangnya ataupun tidak sama tetapi seringkali memiliki aktivitas biologis yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi inangnya.

Peran fungi endofit bagi kehidupan manusia, sejak jaman dahulu telah disebutkan dalam sabda Nabi Muhammad SAW :

الْكَمَاءُ مِنَ الْمَنِّ وَمَاؤُهُ شِفَاءٌ لِلْعَيْنِ

Artinya: “Cendawan termasuk anugerah, dan airnya dapat menyembuhkan (sakit) mata” (H.R. Al-Bukhari) (Al-Najjar, 2011: 204).

Menurut Al-Najjar (2010), dari hadits tersebut Rasulullah menyebutkan *Kam'ah* sebagai “*Manna*” mengandung makna bahwa jamur itu tumbuh karena keistimewaan dan *minnah* (anugerah) dari Allah SWT. karena ia tidak ditanam dan tidak membutuhkan perawatan. Karena itu, *Kam'ah* merupakan *minnah* dari Allah SWT. yang tidak membutuhkan benih atau penyiraman. Manusia tidak perlu bersusah payah menancapkan benih dan memeliharanya. Manusia hanya perlu mengambil dan mengumpulkannya. Karena itulah Rasulullah SAW. menyebut *Kam'ah* sebagai “*manna*” atau anugerah.

Berdasarkan hadist di atas telah dijelaskan bahwa cendawan (fungi) adalah anugerah dari Allah SWT. Dalam hadist tersebut juga dijelaskan mengenai peran jamur dalam kehidupan yang telah ada sejak jaman Rasulullah. Cendawan tidak ditanam maupun dibudidayakan, tetapi ia (tumbuh dengan sendirinya) dengan karunia dari Allah. Selain itu, cendawan juga tidak butuh bahan makanan benih atau pengairan. Cendawan juga tidak membutuhkan usaha dan pemeliharaan manusia, kecuali hanya ketika mengumpulkannya. Dari sinilah ia kemudian dianggap sebagai anugerah. Dalam hadist tersebut juga dijelaskan bahwa air dari cendawan dapat menyembuhkan penyakit, dalam hal ini cendawan yang dimaksud merupakan fungi endofit yang dapat menghasilkan senyawa aktif, dimana senyawa aktif yang dihasilkan dapat menyembuhkan suatu penyakit.

Sebagai seorang ilmuwan muslim, dari sini dapat diketahui bahwa potensi fungi tersebut dapat terus digali dan dimanfaatkan dalam berbagai keperluan hidup manusia, salah satu fungi yang mulai banyak diteliti adalah fungi endofit yang berasal dari tumbuh-tumbuhan.

2.2.4 Senyawa Metabolit Sekunder Fungi Endofit Sebagai Antioksidan

Jamur endofit yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, membuka peluang untuk menghasilkan metabolit sekunder. Apabila jamur endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu

memanen tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk menanamnya (Radji, 2005).

Contoh fungi endofit penghasil antioksidan yaitu *Pestalotiposis microspora* yang diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis* yang menghasilkan senyawa Pestacin dan isopestacin berkhasiat sebagai antioksidan (Radji, 2005). Penelitian lain dilakukan oleh Murthy (2011), yang berhasil mengisolasi fungi dari tumbuhan *Lobelia nicotianifolia* yaitu *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Mucor* yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Hasil analisis fitokimia menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang tergolong sebagai flavonoid dan terdapat hubungan positif diantara kadar fenolik dan kapasitas antioksidan dari ekstrak fungi.

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil (mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan). Untuk memperoleh pasangan elektron, senyawa ini mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya (Halliwell *et al.* 1992). Radikal bebas sangat reaktif, sehingga dapat bereaksi dengan molekul lain seperti karbohidrat, protein, lemak, dan DNA. Untuk mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektron. Zat yang

terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga, sehingga akan memulai reaksi berantai yang akhirnya menyebabkan kerusakan sel tersebut (Droge, 2002).

2.3.2 Sumber dan Jenis Radikal Bebas

Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel, menyebabkan disfungsi, mutasi dan kanker. Radikal bebas dapat menyerang enzim dan protein, mengganggu aktivitas sel normal, atau membran sel, menghasilkan rantai reaksi pengrusakan. Kerusakan membran sel pada pembuluh darah dapat menyebabkan pengerasan dan tumpukan pada arteri dan dapat menyebabkan serangan jantung dan stroke. Radikal bebas pada kolagen dapat menyebabkan jaringan silang pada molekul protein sehingga terjadi kekakuan jaringan (Droge, 2002).

Radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) diproduksi dalam tubuh manusia secara normal melalui proses metabolisme. Spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) seperti nitrit oksida ($\text{NO}\bullet$) telah diketahui memiliki peran ganda, dimana keduanya dapat bersifat merugikan dan juga ada yang menguntungkan (Alisi *et al*, 2008).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi. Oksidasi merupakan reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Reaksi oksidasi adalah proses alami yang terjadi di alam dan di dalam tubuh. Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat mencegah terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi (Schuler P., 1990).

Antioksidan mempunyai arti pelawan oksidasi. Antioksidan bekerja untuk melindungi lipid dari oksidasi oleh radikal. Antioksidan sangat efektif sebagai preduksi, sebab senyawa ini mampu mendonorkan elektron pada radikal bebas. Secara kimia, proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi. Sementara proses penangkapan elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan electron disebut reduktan atau reduktor (Winarsi, 2007).

Antioksidan berfungsi melindungi tubuh terhadap radikal-radikal bebas sehingga antioksidan penting dalam memelihara kesehatan (Arts *et al*, 2004). Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara fungsi fisiologis tubuh. Oleh karena itu, pemberian sumber antioksidan dari luar perlu dilakukan untuk membantu mengatasi keadaan stress oksidatif ini (Lobo *et al*, 2010). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif atau spesies nitrogen aktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas

sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti kanker, kardiovaskuler dan penuaan (Halliwell, 1999).

Antioksidan juga berfungsi untuk melindungi sel dari pengaruh radikal bebas yang reaktif, radikal bebas dapat berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal lainnya (Halliwell, 1999). Dalam tubuh manusia radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein dan lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa radikal bebas sehingga radikal bebas dapat dinetralkan. Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenol dan polifenol. Senyawa tersebut banyak terdapat dalam tumbuhan. Antioksidan yang sering ditemukan antara lain vitamin E, vitamin C, karotenoid.

Menurut Winarsi (2007), status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang berdasarkan reaksi oksidasi dalam tubuh. Tubuh manusia memiliki system antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksidatif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan 3 cara berikut :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutus rantai).

3. Memperbaiki (repair) kerusakan oleh radikal.

Tidak selamanya senyawa oksidan reaktif yang terdapat didalam tubuh itu merugikan. Pada kondisi-kondisi tertentu keberadaannya sangat dibutuhkan, misalnya untuk mmbunuh bakteri yang masuk kedalam tubuh.Oleh sebab itu keberadaannya haus dikendalikan oleh system antioksidan dalam tubuh (Winarsi, 2007).

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat merubah aktivitas apabila melebihi yaitu dari aktivitas sebagai antioksidan berubah menjadi aktivitas sebagai prooksidan. Islam selalu menganjurkan manusia untuk hidup sederhana termasuk kesederhanaan dalam hal makan, tidak boleh berlebih-lebihan. Hal ini serasi dengan firman Allah swt dalam surat al-A'raf ayat 31:

مُحِبُّ لَا إِنَّهُ تَسْرِفُوا وَلَا وَأَشْرَبُوا وَكُلُوا مَسْجِدٍ كُلِّ عِنْدَ زِينَتِكُمْ خُذُوا أَدَمَ يَبْنِي
 الْمُسْرِفِينَ

Artinya: *Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan(Qs. Al-A'raf/7 : 31).*

Maksudnya *makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah swt tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan* yaitujanganlah melampaui batas yang dibutuhkan oleh tubuh dan jangan pulamelampaui batas-batas makanan yang dihalalkan. Berlebih-lebihan dalam mengkonsumsi makanan yang tidak sesuai kebutuhan tubuh itu dapat mengakibatkan kerusakan seluruh anggota tubuh yang beragam bentuknya,

diantaranya memunculkan ketidakstabilan kerja organ pencernaan (Mahran, 2006).

Senyawa antioksidan tersebut dapat beraktivitas bila masih dalam batas konsentrasi tertentu, apabila melebihi batas konsentrasi tersebut maka aktivitasnya dapat berubah menjadi prooksidan sehingga dapat mendatangkan efek negatif, seperti munculnya penyakit kanker dan gangguan liver, terutama untuk penggunaan di atas ambang batas.

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam buah strawberry yaitu antosianin, asam ellagik, katekin, kuaerferin, dan kaemferol. Kandungan antioksidan yang terdapat dalam buah strawberry dapat dilihat pada tabel dibawah.

Tabel 2.2 Komposisi Antioksidan Buah Strawberry (100 gr Buah) (Lauro, G.J., 2000)

No.	Komponen	Komposisi
1	Antosianin	15-35 mg
2	Vitamin C	56-60 mg
3	Flavonoid	48 ± 2 mg
4	Fenol	262 ± 8 mg

2.4.2 Klasifikasi Antioksidan

2.4.2.1 Berdasarkan mekanisme reaksinya

Berdasarkan mekanisme reaksinya antioksidan dibagi menjadi tiga golongan yaitu: antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier (Ya Luo, 2011).

a. Antioksidan Primer

Sering disebut antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis. Antioksidan ini berfungsi untuk menghentikan reaksi rantai sehingga membentuk produk yang lebih stabil. Pada umumnya yang termasuk golongan antioksidan primer adalah enzim oksidatif, sebagai contoh enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), askorbat peroksidase dan glutathion reduktase (GR). Sebagai contoh enzim superoksida dismutase dapat bereaksi dengan radikal bebas membentuk hidrogen peroksida.

b. Antioksidan Sekunder

Sering disebut antioksidan eksogen. Antioksidan ini berfungsi untuk menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga mencegah terjadi kerusakan yang lebih lanjut. Contoh dari antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, betakaroten dan isoflavon. Vitamin E (alfa-tokoferol) adalah antioksidan yang dapat larut dalam lemak terdapat didalam sel.

Vitamin C adalah salah satu vitamin yang larut dalam air dan memiliki peranan penting dalam mencegah berbagai penyakit, dikenal dengan nama asam askorbat. Vitamin C mampu menangkal berbagai radikal bebas. Kadar vitamin C

dalam strawberry adalah 60,00 mg, untuk setiap 100 mg strawberry segar. Kandungan vitamin C strawberry lebih tinggi dibandingkan buah jeruk.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan ini berfungsi untuk memperbaiki sel-sel dan jaringan tubuh yang rusak disebabkan oleh radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier umumnya adalah enzim metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim metionin sulfoksidan reduktase sangat dibutuhkan tubuh untuk mencegah penyakit kanker.

2.4.2.2 Berdasarkan sumbernya

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen terdapat secara alamiah dari dalam tubuh sedangkan antioksidan eksogen dari luar tubuh (Percival, 1998). Dalam keadaan normal, secara fisiologis sel memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi logis akibat reaksi biokimia dalam metabolisme sel aerob atau metabolisme xenobiotik.

Tubuh secara alami memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti Superoxide Dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase (Shanmugapriya, 2012). Antioksidan yang terdapat dalam tubuh harus terdapat dalam jumlah yang memadai. Pada keadaan patologik diantaranya akibat terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan. Enzim-enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dapat menurun aktivitasnya.

2.4.3 Mekanisme Antioksidan

Kochar dan Rossel (1990) dalam Trilaksani (2003) menyatakan bahwa antioksidan dapat bekerja dengan dua cara:

- 1) Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas lemak untuk membentuk kembali molekul lemak, dengan demikian jika antioksidan diberikan maka akan menghambat proses autooksidasi.
- 2) Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas untuk membentuk hidroperoksida dan sebuah radikal bebas antioksidan. Radikal bebas antioksidan ini lebih stabil daripada radikal bebas lemak karena struktur resonansi elektron dalam cincin aromatik antioksidan, dengan demikian akan menghentikan reaksi oksidasi berantai.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida (Trilaksani, 2003). Menurut Gordon (1990) dalam Trilaksani (2003), fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil.

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 2.5). Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru.



Radikal lipid

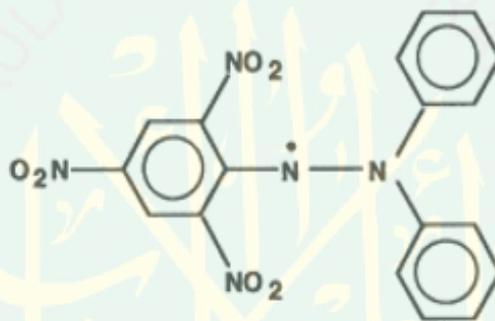


Gambar 2.5 Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Trilaksani, 2003).

2.5 Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH (1-1-Difenil-2-pikrilhidrazil).

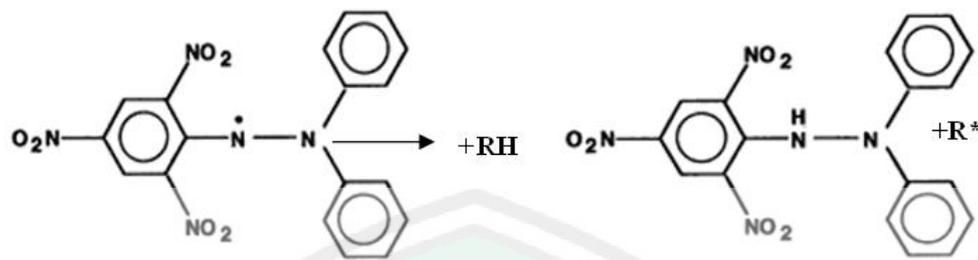
DPPH merupakan senyawa radikal bebas. Metode uji DPPH adalah metode untuk mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan electron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin rendah nilai adsorbansi dari larutan DPPH. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Molyneux, 2004).

Metode DPPH merupakan metode yang sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan berbagai tanaman obat. Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi dari larutan methanol di dalam radikal bebas DPPH yang berwarna dengan penghambatan radikal bebas. Metode ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, dimana semakin besar konsentrasi semakin besar pula persen penghambatannya (Mailandari, 2012).



Gambar 2.6 Struktur Kimia DPPH (Molyneux, 2004).

Inhibition Concentration (IC_{50}) merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50% suatu konsentrasi sampel (ppm). Senyawa murni yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi akan memiliki IC_{50} yang rendah. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ begitu juga dengan nilai IC_{50} vitamin C sebagai kontrol positif (Pratiwi *et al.*, 2013). Antioksidan dikatakan sangat kuat jika $IC_{50} < 50$ ppm, kuat jika IC_{50} 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} 101-250 ppm, lemah jika 250-500 ppm dan sangat lemah jika $IC_{50} > 500$ ppm (Jun *et al.*, 2011).



Difenil Pikrilhidrazil (Ungu)

Difenil Pikrilhidrazin (Kuning)

Gambar 2.7 Reduksi DPPH dari Senyawa Radikal Bebas (Molyneux,2004).

Reaksi peredaman antioksidan bekerja melalui mekanisme donasi atom hidrogen ke senyawa DPPH. Sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu (*1,1-2, pikrilhidrazil*) menjadi kuning (*1,1-2, pikrilhidrazin*). DPPH radikal menjadi non radikal dan antioksidan akan menjadi radikal antioksidan (R^*) yang bersifat stabil dan tidak memiliki kemampuan bereaksi dengan senyawa radikal lain (Molyneux, 2004).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Cahaya tampak pada panjang gelombang 517 nm memberikan warna ungu (Day, 1998). DPPH mempunyai massa molar (M_r) ($C_{18}H_{12}N_5O_6 = 394,33$) (Molyneux, 2003). Metode DPPH juga telah digunakan beberapa tahun lalu untuk mengetahui jumlah antioksidan pada sistem biologis kompleks. Metode DPPH tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. Pengukuran kapasitas

total antioksidan akan membantu memahami sifat fungsional suatu makanan (Prakash, 2001).

DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen, dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan makanan. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna tersebut akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Diskolorisasi yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Peningkatan diskolorisasi mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan rumus (Molyneux, 2004):

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}) \times 100}{\text{Absorbansi kontrol}} \%$$

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai Absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan baseline untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004).

Berdasarkan rumus tersebut, semakin besar tingkat diskolorisasi (absorbansi semakin kecil) maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal. Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada tabel 2.3 dibawah ini (Jun *et al*, 2011):

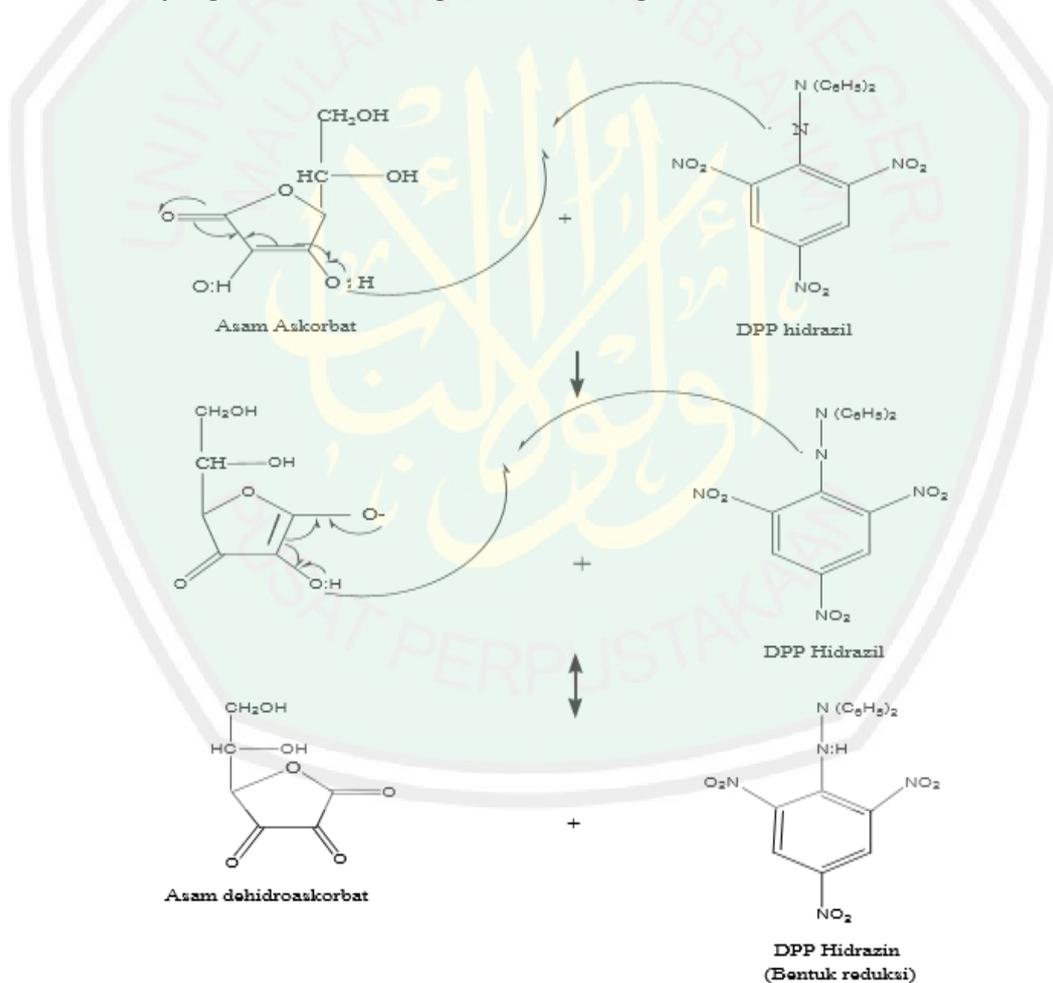
Tabel 2.3 Ketentuan Kekuatan Antioksidan.

Nilai IC 50	Kekuatan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
101-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah
>200	Sangat lemah

Pengujian antioksidan dengan menggunakan metode DPPH ini perlu ditentukan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan sangat bervariasi. Pada prakteknya, hasil pengukuran panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum yaitu sekitar panjang gelombang 515-520 nm (Molyneux, 2003).

Pada penelitian ini menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif. Asam askorbat dengan rantai rangkap gugus OH yang dimilikinya mampu menyumbang elektron secara resonansi. Sehingga meskipun asam askorbat nanti menjadi radikal tetapi tetap netral karena sifatnya tidak reaktif (radikal stabil). Silalahi (2006), juga menyatakan bahwa asam askorbat (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan yang secara efektif menangkap radikal-radikal $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , ROO^{\cdot} , dan juga dapat memainkan peran dalam regenerasi teroksidasi vitamin E yang berinteraksi dengan radikal bebas untuk mencegah kerusakan sel.

Menurut Choliso (2008), asam askorbat mudah mengalami oksidasi oleh radikal bebas karena mempunyai ikatan rangkap, dengan adanya 2 gugus-OH yang terikat pada ikatan rangkap tersebut, radikal bebas akan mencabut atom hidrogen dan menyebabkan muatan negatif pada atom oksigen yang selanjutnya akan didelokalisasi melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak membahayakan. Adapun mekanisme aktivitas antioksidan Asam askorbat yang direaksikan dengan DPPH sebagai berikut (Choliso, 2008) :



Gambar 2.8 Mekanisme Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan DPPH (Choliso, 2008).

2.6 Teknik Pemisahan Senyawa Aktif dengan Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan. Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, soxhletasi, penggodakan (refluks), ekstraksi cair-cair (partisi) dan ekstraksi ultrasonik. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi cair-cair (partisi). Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar), lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok untuk memperluas area permukaan kontak di antara kedua pelarut sehingga pendistribusian zat terlarut di antara keduanya dapat berlangsung dengan baik. Lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam dua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi

yang tetap. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan (Khopkar, 2008).

Metode ekstraksi tergantung pada polaritas senyawa yang akan diekstrak. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama keplarannya. Prinsip kelarutan yang dipakai adalah *like dissolve like* artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Khopkar, 2008).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol p.a dan etil aasetat. Pelarut tersebut memenuhi kriteria syarat pelarut yang digunakan, syarat pelarut yang digunakan sebagai berikut (Guenther, 1987):

1. Harus dapat melarutkan semua zat dengan cepat dan sempurna.
2. Harus mempunyai titik didih yang cukup rendah, agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi.
3. Pelarut tidak boleh larut dalam air.
4. Pelarut harus bersifat inert.

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200-400 nm) atau daerah sinar tampak (400-750 nm). Biasanya cahaya terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang (λ) dari 400-

750 nm (Day, 1998). Spektrofotometer bekerja pada prinsip penyerapan gelombang cahaya (radiasi) yang dilewatkan pada suatu larutan.

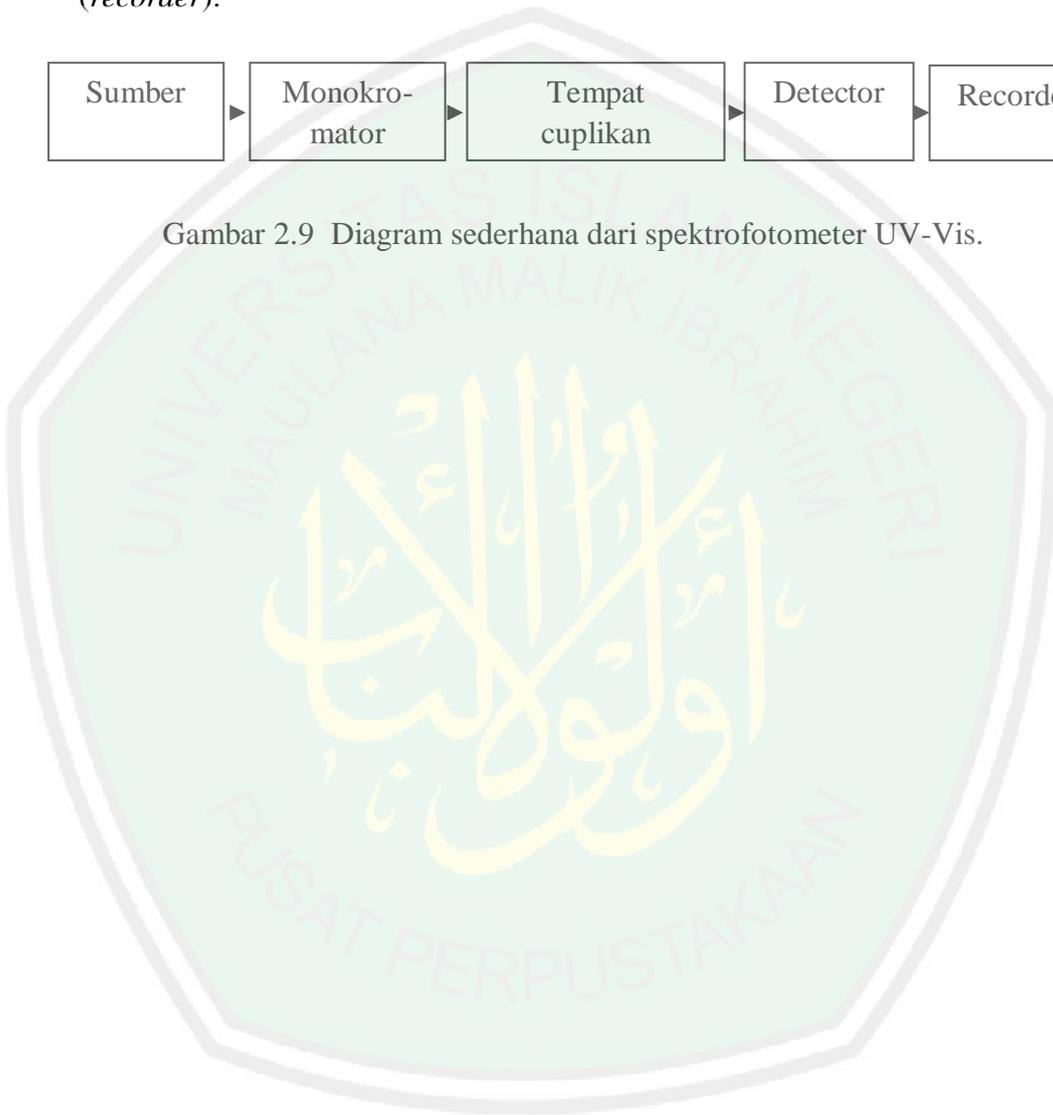
Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi (Sastrohamidjojo,2001):

- 1) *Sumber tenaga radiasi* merupakan sumber listrik bertegangan tinggi atau oleh pemanasan listrik yang dapat mengeksitasi benda hingga ke tingkat tenaga yang tinggi. Benda/materi yang kembali ke tingkat dasarnya, melepaskan foton dengan tenaga-tenaga yang karakteristik yang sesuai dengan ΔE , yaitu perbedaan tenaga antara tingkat tereksitasi dan tingkat dasar rendah.
- 2) *Monokromator* digunakan untuk mengubah radiasi polikromatik menjadi monokromatik. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif/panjang gelombang-gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang gelombang-gelombang tersebut menjadi jalur-jalur yang sangat sempit.
- 3) *Tempat cuplikan* untuk daerah ultraviolet digunakan quartz atau sel dari silika yang dilebur, sedangkan untuk daerah terlihat digunakan gelas biasa atau quartz. Panjang sel tempat cuplikan mempunyai panjang lintasan dari 1 hingga 10 cm. Pelarut yang digunakan harus melarutkan cuplikan dan meneruskan radiasi dalam daerah panjang gelombang yang sedang dipelajari . Beberapa pelarut yang biasa digunakan dalam daerah–daerah ultraviolet dan terlihat adalah seperti: aseton, benzen, metanol, etanol 95% dan sebagainya.
- 4) *Detektor*, setiap detektor menyerap tenaga foton yang mengenainya dan mengubah tenaga tersebut untuk dapat diukur secara kuantitatif seperti sebagai

arus listrik atau perubahan-perubahan yang panas. Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat (*recorder*).



Gambar 2.9 Diagram sederhana dari spektrofotometer UV-Vis.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersifat deskriptif, yaitu deskriptif kualitatif dan deskripsi kuantitatif. Deskriptif kualitatif berupa eksplorasi dengan cara mengisolasi dan identifikasi fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria × ananassa*) yang diambil dari perkebunan petik buah strawberry di daerah Pandan, Pandanrejo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu Malang, Jawa Timur. Deskripsi kuantitatif berupa eksperimen dengan menguji isolat fungi endofit untuk mengetahui potensinya menghasilkan senyawa antioksidan.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai bulan Maret- September tahun 2016, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika, dan Laboratorium Optik jurusan Biologi, serta Laboratorium Kimia Organik jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, untuk alat isolasi dan identifikasi fungi antara lain *Laminar Air Flow (LAF) cabinet*, autoklaf, cawan petri, jarum ose, botol flakon, bunsen, kompor gas, oven, pinset, inkubator,

aluminium foil, gelas ukur, erlenmeyer, mikropipet, blue tip, timbangan analitik, cover glass, shaker inkubator, pisau skalpel, tabung reaksi, hotplate, stirer, *beaker glass*, vortex, deck glass, obyek glass, mikroskop.

Alat-alat untuk uji antioksidan antara lain tabung erlenmeyer tutup 250 mL, spatula besar, spatula kecil, pengaduk kaca, shaker inkubator, labu ukur 5 ml, corong pisah, nampan, kertas saring whatman no 1, corong, pipet ukur 10 ml, statif, kertas label, mikro pipet, oven, beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, gelas arloji, rak tabung reaksi, pipet ukur, timbangan analitik, sonikator, aluminium foil, spektrofotometer UV-Vis, inkubator, *hand glove*, masker, kertas tisu, alat tulis, kamera digital.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah dan daun strawberry (*Fragaria × ananassa*), media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*), media PDB (*Potatoes Dextrose Broth*), *Yeast Extract*, NaOCl (Natrium hipoklorit) 1 %, DPPH (*1-1-difenil-2-pikrihidrazil*), asam askorbat, spiritus, etanol 70%, metanol p.a, aquades, alkohol 70%, kertas pH, NaCl 0,9 %, kloramfenikol, etil asetat, gas N₂, kapas, spiritus, tisu, plastik, karet, kain kasa, lactophenol cotton blue, plastik wrap, kertas label, kertas saring Whatman No. 1, tissue, aluminium foil.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat (hanya alat yang bisa dibungkus) dengan aluminium foil, kertas kemudian dimasukkan plastik, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 Pembuatan Media Media PDA

Ditimbang PDA sebanyak 39 gram dan kloramfenikol 0,2 gram kemudian dimasukkan erlenmeyer 1000mL dan ditambahkan aquades sampai 1 liter. Seluruh bahan tersebut dipanaskan sampai mendidih di atas *hot plate* dan diaduk dengan *strirer* hingga homogen. Media yang telah mendidih selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, tekanan 1 atm (Ramadhan, 2011).

3.4.2.2 Media PDY (*Potato Dextrose Yeast*)Broth

PDB (*Potato Dextrose Broth*) dan YE (*Yeast Extract*) masing-masing sebanyak 30 gram dan 2 gram dilarutkan dengan 1000 ml aquades dalam gelas ukur 1500 ml. Media tersebut dicampur sampai merata dengan cara pengadukan dan pemanasan menggunakan hotplate dan stirer. Sambil diaduk, campuran media tersebut diukur pH 6 dengan cara penambahan beberapa tetes larutan NaOH. Media tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit (Jauhari, 2010).

3.4.3 Isolasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry

Isolasi fungi endofit dilakukan dengan teknik tanam langsung (*direct seed planting*). Buah dan daun strawberry yang masih segar dicuci dibawah air mengalir selama 10 menit untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan dengan tissue. Buah dan daun strawberry yang telah kering direndam ke dalam botol flakon steril yang berisi etanol 70% selama 1 menit. Dilanjutkan sterilisasi dengan NaOCl 5,3% selama 5 menit, lalu direndam kembali dengan etanol 70% selama 30 detik. Buah dan daun strawberry dibilas dengan aquades steril sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3-5 detik (Radji, *et al*, 2011).

Buah dan daun tersebut ditiriskan di atas cawan petri steril yang telah diberi kertas saring steril dan dibiarkan kering. Dipotong dengan pisau skalpel steril menjadi ukuran ± 1 cm. Potongan sampel ditempatkan pada cawan petri yang berisi media PDA dengan diberi tekanan sedikit. Bagian potongan buah dan daun harus menempel pada permukaan media (Ilmiyah *et al*, 2015). Inokulasi sampel dilakukan di atas cawan petri, setiap cawan petri berisi 3 potongan sampel. Sampel di inkubasi selama 2-14 hari pada suhu 27-29° C (suhu ruang) (Noverita dan Emawati, 2009). Semua proses sterilisasi hingga proses isolasi dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow*. Pada aquades bilasan terakhir diambil 1 ml dan dituang ke dalam media PDA yang baru untuk digunakan sebagai kontrol sterilisasi permukaan daun, jika pada media kontrol tumbuh fungi, maka sampel isolasi tersebut bukan merupakan fungi endofit. Pengamatan dilakukan 2 hari sekali selama fungi endofit tampak tumbuh (Tirtana, *et al*, 2013).

3.4.4 Pemurnian Fungi Endofit

Fungi endofit yang telah tumbuh pada media isolasi PDA, dimurnikan masing-masing yang dianggap berbeda berdasarkan kenampakan morfologi makroskopis meliputi warna dan bentuk koloni pada media PDA baru dengan menggunakan jarum ose. Bila fungi endofit yang tumbuh masih bercampur dengan fungi yang lain maka dipurifikasi kembali. Hal ini berfungsi untuk memperoleh isolat fungi endofit yang murni (Tirtana *et al*, 2013). Fungi endofit diinkubasi pada suhu 25⁰C selama 3-14 hari sesuai dengan pertumbuhannya (Noverita dan Emawati, 2009).

3.4.5 Pembuatan *Stock Culture* dan *Working Culture*

Pembuatan *stock culture* dan *working culture* dilakukan dengan menginokulasi koloni tunggal biakan fungi hasil purifikasi ke dalam 4 cawan petri berisi medium PDA. Inokulasi biakan fungi dilakukan dengan memotong media PDA yang ditumbuhi fungi endofit dengan ukuran 1x1 kemudian diinokulasikan pada media PDA baru. Keempat cawan petri yang berisi masing-masing biakan diinkubai pada suhu ruang selama 3-14 hari hingga terjadi sporulasi. Dua cawan biakan digunakan sebagai *working culture* dan disimpan pada suhu ruang, sedangkan dua cawan lainnya digunakan sebagai *stock culture* dan disimpan pada suhu 4⁰C dalam lemari pendingin.

3.4.6 Identifikasi Isolat Fungi Endofit

Fungi endofit yang telah diinkubasi 7 hari pada suhu ruangan, diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara langsung melihat warna permukaan, warna permukaan sebaliknya, bentuk permukaan, dan tepi koloni fungi endofit. Sedangkan pengamatan ciri-ciri mikroskopis dengan cara melihat bentuk konidia, hifa, dan konidiofor fungi endofit menggunakan mikroskop.

Pembuatan preparat untuk pengamatan yang menggunakan mikroskop binokuler adalah sebagai berikut (Yosmar *et al*, 2013):

1. Dipotong media PDA (*Potato Dextrose Agar*) 1 cm² dari cawan petri dengan pimes steril secara aseptis.
2. Masing-masing potongan media tersebut diletakkan di atas obyek glass steril..
3. Isolat fungi endofit yang ingin diidentifikasi dikultur dengan cara digoreskan pada sisi tengah media.
4. Ditutup obyek glass dengan deck glass kemudian ditekan secara perlahan.
5. Diletakkan obyek glass tersebut di atas tissue yang telah dibasahi aquades steril didalam cawan petri steril dan di inkubasi pada suhu 20-25°C selama 5-7 hari.
6. Pengamatan dilakukan dengan cara disiapkan obyek glass dan ditetaskan 1 tetes larutan Lactophenol cotton blue sebagai pewarna.
7. Ditutup tetasan larutan Lactophenol cotton blue dengan deck glass dari hasil kultur fungi endofit pada poin (1-5).
8. Diamati di bawah mikroskop computer perbesaran 100x dan 400x.

9. Diamati semua bentukan fungi endofit dari konidia, hifa, konidiosfor dan rhizoid.
10. Hasil pengamatan dikomparasikan dengan atlas identifikasi fungi yaitu buku identifikasi jamur karangan Barnett (1972) untuk menentukan fungi tersebut dapat diklasifikasikan dalam genus tertentu.

3.4.7 Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Isolat fungi endofit yang terpilih diambil 3 potongan berukuran $\pm 1 \times 1$ cm ditumbuhkan pada media cair PDY (*Potatoes Dextrose Yeast*) sebanyak 20 mL. kultur kemudian diinkubasi pada kecepatan 130 rpm (Srikandace, Yoice *et al.* 2007) pada suhu ruang selama ± 14 hari. Pengukuran bobot biomassa fungi endofit dilakukan setiap 1 hari. Miselia fungi endofit yang tumbuh di dalam media PDY kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 80°C . Bobot kering miselia ditentukan dengan menghitung selisih bobot antara kertas saring kosong dengan kertas saring berisi miselia (Andhikawati *et al.*, 2014). Kemudian dibuat kurva pertumbuhan antara waktu pengambilan sampel dengan bobot biomassa.

3.4.8 Uji Metabolit Sekunder Fungi Endofit sebagai Antioksidan

3.4.8.1 Fermentasi Fungi Endofit

Fermentasi fungi endofit dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung metabolit sekunder. Koloni fungi endofit dari stok working culture yang telah bersporulasi kemudian dipotong dan diambil 3

potongan berukuran $\pm 1 \times 1$ cm. Potongan jamur tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam media fermentasi cair PDY sebanyak 20 mL dalam labu erlenmeyer ukuran 100 mL. Labu erlenmeyer yang berisi media fermentasi cair PDY dan potongan kultur fungi endofit difermentasi goyang menggunakan rotary shaker dengan kecepatan 130 rpm (kocokan/menit), dilakukan pada suhu ruang ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$), pengambilan metabolit sekunder sesuai dengan kurva pertumbuhan masing-masing fungi (Noverita *et al.*, 2009).

3.4.8.2 Ekstraksi Metabolit Sekunder

Ekstraksi metabolit sekunder fungi endofit pertama kali dilakukan dengan cara memisahkan bagian supernatan dengan biomassa menggunakan kertas saring. Supernatan kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dan dikocok dalam corong pisah, kemudian didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (lapisan organik) merupakan ekstrak etil asetat yang akan melarutkan senyawa-senyawa organik yang ada pada ekstrak fungi lalu fraksi ini dipisahkan. Lapisan bawah merupakan fraksi air lalu fraksi tersebut ditambahkan etil asetat baru kemudian dikocok (ekstraksi ini dilakukan sebanyak 3 kali) dan hanya lapisan atas saja yang diambil. Fraksi etil asetat yang diperoleh disatukan dan diuapkan dengan N_2 , setelah itu ditambahkan metanol p.a 10 ml (Ariastiwi, 2014).

3.4.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan

3.4.9.1 Pembuatan Larutan DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan pereaksi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Sebanyak 0,9 mg DPPH (BM= 394,32 g/mol) ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. hingga 40 mL, ditempatkan dalam botol gelap. Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,06 mM dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a. hingga tanda dan dihomogenkan, larutan ini digunakan sebagai kontrol saat absorbansi (Dompeipen, 2015).

3.4.9.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan DPPH 0,06 mM sebanyak 1 mL dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a. hingga tanda dan dihomogenkan. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh. Dicari λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Dompoipen, 2015).

3.4.9.3 Pembuatan Larutan Asam Askorbat

Sebanyak 3 mg asam askorbat ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. hingga 10 mL dan dipipet sebanyak 50, 100, 150, 200 dan 250 μ L lalu dimasukkan ke dalam labu terukur 5 mL dengan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,06 mM kemudian ditambahkan metanol p.a. hingga diperoleh konsentrasi

larutan asam askorbat sebagai kontrol positif sebesar 3, 6, 9, 12, 15 µg/mL (Dompeipen, 2015)

3.4.9.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel

Sebanyak 5 mg sampel ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL metanol p.a., larutan ini adalah larutan induk. Sebanyak 100, 500, 1000, 1500 dan 2000 µL larutan induk dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200 µg/mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL DPPH 0,06 mM ke dalam masing-masing tabung dan ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Larutan uji diinkubasi dalam penangas air pada suhu 37°C selama 30 menit (Dompoipen, 2015). Serapan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh sebelumnya menggunakan spektrofotometer cahaya tampak. Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan Persamaan:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan.

Absorbansi kontrol : Absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel.

Absorbansi sampel: Absorbansi sisa DPPH yang tidak berikatan dengan sampel

Hasil perhitungan persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data adsorbansi kemudian dilakukan perhitungan IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen aktivitas antioksidan (y).

Pengukuran besarnya aktivitas antioksidan menggunakan acuan nilai IC_{50} yaitu menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan software *GraphPad Prism 7*. Sampel yang mempunyai nilai IC_{50} terendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi.

3.4.10 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kualitatif yaitu hasil identifikasi fungi endofit pada buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) dianalisa secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopik dan mikroskopik yang disusun secara tabel dan gambar, sedangkan data yang diperoleh berupa data kuantitatif yaitu dengan menghitung nilai IC_{50} aktivitas antioksidan sampel dengan menggunakan software *GraphPad Prism 7*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

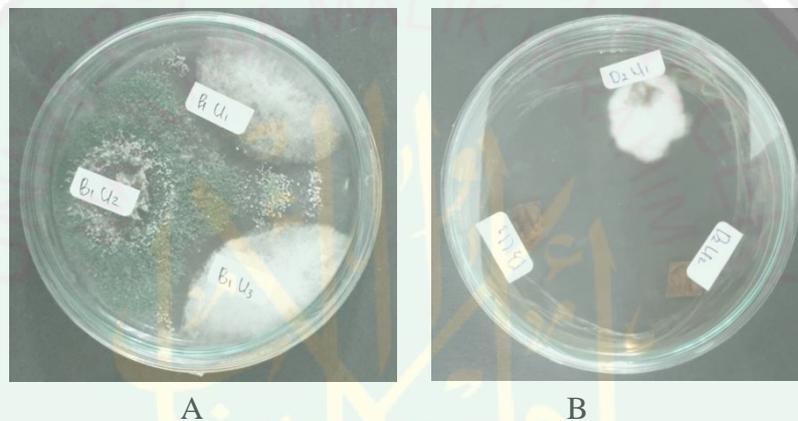
4.1 Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*).

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat fungi diperoleh dari kebun petik buah strawberry daerah Pandan, Pandanrejo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu Malang. Isolasi fungi endofit dari buah dan daun strawberry dilakukan dengan menggunakan metode tanam langsung dengan cara memotong sampel yang telah steril dan menempelkan bagian dalam potongan pada media PDA dengan diberi sedikit tekanan. Sampel yang akan digunakan dicuci dibawah air mengalir selama 10 menit, pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan debu atau kotoran yang menempel pada permukaan buah dan daun strawberry. Sterilisasi permukaan sampel dengan cara merendam sampel menggunakan etanol 70% selama 1 menit, larutan NaOCl 5,3% selama 5 menit, lalu direndam kembali dengan etanol 70% selama 30 detik. Kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 2 kali selama 3-5 detik, dan pada bilasan terakhir digunakan sebagai kontrol positif.

Perendaman larutan NaOCl 5,3% dan etanol 70% dalam perlakuan ini berfungsi sebagai desinfektan yang berguna untuk mensterilkan permukaan buah dan daun strawberry dari mikroorganisme patogen. Rante *et al* (2013) menjelaskan alkohol 70% merupakan kadar optimal untuk merusak lapisan membran sel mikroorganisme dengan melarutkan lipid dan mendenaturasi protein yang ada pada membran sel. Sehingga dapat mengganggu fungsi membran sel

dalam transportasi cairan ke dalam dan keluar sel yang menyebabkan sel mikroorganisme menjadi lisis. Natrium hipoklorit adalah senyawa klorin yang mampu merusak membran dan protein mikroorganisme, serta mengoksidasi sel mikroorganisme sehingga mengganggu proses metabolisme.

Hasil isolat fungi endofit yang berhasil diisolasi dari buah dan daun strawberry pada media PDA dapat dilihat pada gambar 4.1 di bawah ini.



Gambar 4.1 A. Fungi endofit dalam belahan buah strawberry, B. Fungi Endofit dalam belahan daun strawberry.

Hasil pengamatan pada Gambar 4.1 diatas membuktikan bahwa fungi endofit dapat ditemukan pada buah dan daun strawberry dimana fungi tampak tumbuh disebelah dalam belahan buah dan daun strawberry. Hal ini membenarkan pernyataan yang diungkapkan Worang (2003), bahwa fungi endofit terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, buah, umbi, ranting maupun akar tumbuhan.

Pernyataan tersebut juga didukung oleh pernyataan Radji (2005) bahwa fungi endofit merupakan organisme hidup berukuran mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tanaman, daun, akar, buah, dan batang. Fungi ini hidup di dalam

jaringan tanaman pada periode tertentu dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa fungi endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit.

Fungi endofit yang tumbuh kemudian dilakukan pemurnian untuk mendapatkan isolat tunggal. Isolat fungi endofit yang dihasilkan dari buah dan daun strawberry setelah dilakukan pemurnian menunjukkan kenampakan yang beraneka ragam baik dari bentuk koloni, warna koloni, maupun lama pertumbuhan, sehingga memudahkan bagi peneliti untuk membedakan dan memisahkan fungi endofit yang satu dengan yang lainnya pada saat pemurnian. Berikut adalah hasil dari isolasi yang telah dilakukan, dimana terdapat 2 isolat yang berasal dari buah dengan kode FB1 dan FB2, dan 2 isolat yang berasal dari daun strawberry dengan kode FD1 dan FD2.

Perbedaan karakteristik isolat fungi endofit akan disajikan dalam tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Ciri-ciri Makroskopis isolat fungi endofit dari buah dan daun strawberry

a. Ciri makroskopis isolat fungi endofit dari buah

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Permukaan Koloni	Lingkaran Konsentris
FB1 (<i>Trichoderma</i> sp.)	Bulat	Rata	Permukaan tekstur berserabut halus. Warna permukaan bagian atas putih dengan bagian tengah hijau. Warna sebaliknya putih dengan bagian tengah hijau.	Ada
FB2 (<i>Fusarium</i> sp.)	Bulat	Rata	Permukaan tekstur berserabut halus seperti kapas. Warna permukaan bagian atas putih dan warna sebaliknya berwarna putih.	Tidak ada

b. Ciri makroskopis isolat fungi endofit dari buah

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Permukaan Koloni	Lingkaran Konsentris
FD1 (<i>Mucor</i> sp.)	Bulat	Tidak rata	Permukaan tekstur berserabut kasar. Warna permukaan atas putih dan warna sebaliknya putih kekuningan	Tidak ada
FD2 (<i>Mucor</i> sp.)	Bulat	Tidak rata	Permukaan tekstur berserabut kasar. Warna permukaan atas putih keruh, dan warna sebaliknya putih kekuningan	Tidak ada

Berdasarkan tabel 4.1 diatas dapat diketahui bahwa setiap morfologi fungi endofit mempunyai kenampakan yang berbeda-beda, baik dari permukaan bagian atas maupun permukaan bagian bawah. Setiap fungi yang berhasil diisolasi ini memiliki ciri khas sendiri-sendiri. Keberadaan fungi endofit sebenarnya sudah dijelaskan dalam Q. S Ar–Ruum (30) ayat 19 yang berbunyi:

وَكَذَلِكَ مَوْتَهَا بَعْدَ الْأَرْضِ وَيُحْيِي الْحَيِّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ تُخْرِجُ

تُخْرِجُونَ ﴿١٩﴾

Artinya: “Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup dan menghidupkan bumi sesudah matinya. dan seperti Itulah kamu akan dikeluarkan (dari kubur)” (Q. S Ar–Ruum/30: 19).

Penggunaan kata *yukhrij/mengeluarkanyang* mendampingi kata *al-hayy*/yang hidup dan *al-mayyit*/yang mati, mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan secara terus menerus , tidak berhenti di bumi dan di angkasa , bahkan proses kehidupan dan kematian bukan saja terlihat pada tumbuh-tumbuhan melainkan antar sesama manusia, melalui ayat Allah SWT memperingatkan kita agar menyadari bahwa demikianlah kehidupan dan kematian, demikian itu pula kelak kita akan dibangkitkan setelah kematian.

Menurut *Tafsir Al-Maraghi juz 21* (1989: 65-66) menafsirkan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu dari hal-hal yang berbeda, mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan secara terus menerus, tidak berhenti di bumi dan di angkasa. Dia mengeluarkan manusia dari asal *nutfah* dan unggas dari

asal telur. Sebagaimana Dia mampu pula untuk menciptakan sebaliknya, maka untuk itu Dia mengeluarkan *nutfah* dari manusia dan telur dari unggas. Bukan saja terlihat pada antar manusia melainkan tumbuh-tumbuhan. Hal ini terkandung bukti yang menunjukkan akan kesempurnaan dari kekuasaan-Nya dan keindahan ciptaan-Nya.

Melalui penafsiran QS. Ar-Ruum (30): 19 juga didukung dengan *Tafsir Al-Maraghi juz 21* (1989: 65-66) memperingatkan kita sekaligus memberikan pembelajaran mengenai kehidupan dan kematian. Peristiwa ini hampir sama dengan fungsi endofit yang diambil dari buah dan daun strawberry, sehingga keuntungan yang didapatkan adalah ketidakharusan manusia dalam menggunakan buah dan daun strawberry dalam jumlah yang sangat besar, tetapi dengan memanfaatkan mikroorganisme yang hidup didalamnya (Shihab, 2002), dengan begitu manusia juga tidak perlu khawatir apabila masa hidup tumbuhan tergantung dengan musim atau faktor yang lainnya.

Menurut Worang (2003) bahwa Keberadaan fungi endofit dapat menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika yang bermanfaat bagi tumbuhan inang sehingga dapat dikatakan hubungan antar jamur endofit dengan tanaman inangnya dapat berupa mutualistik.

Berdasarkan pernyataan diatas, menjelaskan bahwa fungi endofit yang tumbuh pada jaringan tanaman khususnya pada buah dan daun strawberry merupakan salah satu ciptaan Allah yang dapat dimanfaatkan untuk kemaslahatan

manusia. Hal ini juga telah dijelaskan Allah dalam surat Al-Hijr (15) : 19-20 yaitu:

مُرَّوَجَعَلْنَا ﴿١٩﴾ مَّوْزُونَ شَيْءٍ كُلِّ مِنْ فِيهَا وَأَنْبَتْنَا رَوَاسِيَّ فِيهَا وَالْقَيْنَا مَدَدَ نَبْهَاهَا وَالْأَرْضَ
بِرَزْقِينَ لَهُ لَسْتُمْ وَمَنْ مَعِي فِيهَا كَ ﴿٢٠﴾

Artinya: ”Dan kami Telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan kami Telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya(QS. Al-Hijr (15) : 19-20).

Ayat diatas menjelaskan tentang nikmat tanah dan berkahnya bagi manusia. Seluruh alam semesta dari gunung hingga lautan tercipta sesuai takaran yang tepat dan bukan terjadi secara kebetulan. Dengan demikian, Allah menyediakan seluruh kebutuhan hidup manusia. Selain manusia, terdapat makhluk lain yang hidup dimuka bumi ini dan Allah memberikan rezeki kepada mereka dan memenuhi keperluannya. Sehingga segala sesuatu yang diciptakan memberikan kemaslahatan bagi manusia dan makhluk lainnya.

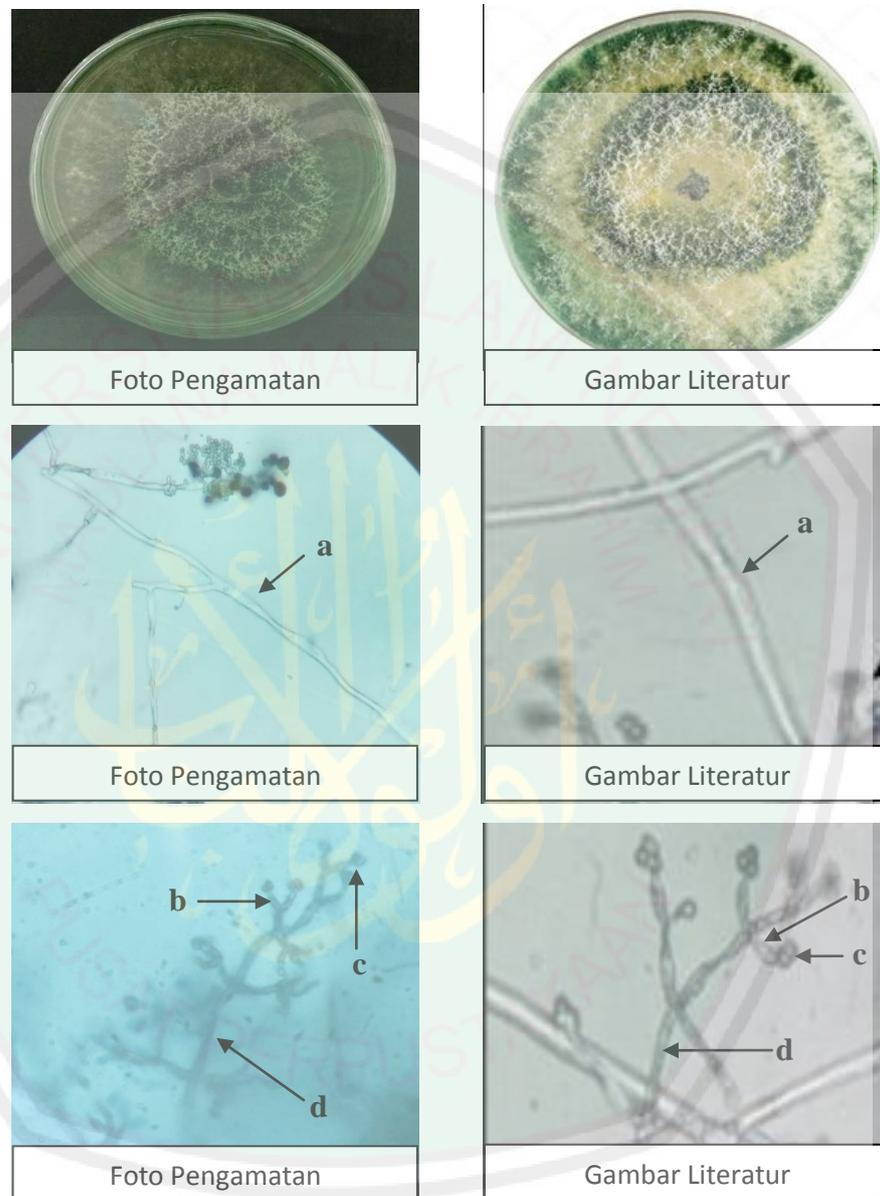
Menurut Ash-Shiddieqy (2000), lafadz “*wal ardhoh madadnaahaa*” pada ayat diatas menjelaskan bahwa semua kekayaan alam yang ada di bumi ini diciptakan Allah hanya untuk manusia dan supaya manusia mau mengambil manfaat untuk kemaslahatan dan kesejahteraan hidupnya, karena semua kekayaan alam yang ada ini baik berupa makhluk hidup maupun benda mati, yang kecil maupun yang besar sudah pasti memiliki manfaat masing-masing. Seperti halnya fungi memiliki banyak kegunaan untuk kesehatan dan hal-hal lainnya, dengan

jelas bahwa ayat tersebut sangat relevan dengan fenomena yang terjadi yaitu adanya kegunaan dan manfaat dari fungi atau jamur.

4.2 Identifikasi Fungi Endofit Dari Buah Dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*)

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, fungi endofit yang telah berhasil diisolasi dari buah dan daun strawberry dapat diidentifikasi dengan melihat ciri makroskopis dan mikroskopis, dengan mengacu pada buku petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972). Pengamatan makroskopis meliputi pengamatan warna permukaan depan dan belakang koloni, permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin), tepi koloni, ada atau tidak adanya lingkaran konsentris. Pemeriksaan mikroskopis isolat fungi endofit meliputi ada atau tidak adanya septa pada hifa, bentuk hifa (seperti spiral, bersekat atau mempunyai rhizoid), bentuk spora, dan konidia. Di bawah ini akan dijelaskan mengenai ciri makroskopis dan mikroskopis isolat fungi endofit pada buah dan daun strawberry.

4.2.1 Isolat FB 1 (*Trichoderma* sp.)



Gambar 4.2 Foto pengamatan makroskopis dan mikroskopis FB1 (400x) , serta gambar literatur *Trichoderma* sp (Gusnawaty, 2014).
(Keterangan: a. Hifa, b. Phialid, c. Konidia, d. konidiofor)

Pengamatan makroskopis pada isolat FB1 memiliki bentuk koloni bulat, tepian koloni rata, permukaan koloni berserabut halus, warna miselia tampak depan yaitu putih dengan bagian tengah berwarna hijau, warna tampak sebalik

berwarna putih kehijauan. Pada awal pertumbuhan di media PDA koloni berwarna putih kemudian berubah menjadi hijau ketika sudah tua. Pengamatan secara mikroskopis yang telah dilakukan, isolat FB1 memiliki ciri-ciri hifa tidak bersekat dan bercabang serta hyalin atau tidak berwarna. Phialid lonjong dan hyalin. Konidia berbentuk oval. Konidiofor hyalin dan bercabang banyak. Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang telah dijelaskan diatas, dan setelah dibandingkan dengan buku petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat PB1 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Trichoderma* sp.

Menurut Barnett dan Hunter (1972), secara makroskopis *Trichoderma* sp memiliki bentuk miselium halus dan berserabut. Miselium tumbuh cepat dengan awal pertumbuhan berwarna putih kemudian berubah menjadi hijau. Ciri mikroskopik dari fungi ini adalah mempunyai percabangan konidiofor yang banyak, hifa dan konidiofornya hialin, pada ujung konidiofor tumbuh sel-sel yang menyerupai botol (fialid), fialid tunggal atau membentuk kumpulan, konidia bersel tunggal, hialin dan berbentuk ovoid. Lebih lanjut dilaporkan oleh Widyastuti *et al.* (1988) bahwa *Trichoderma* sp sangat melimpah keberadaannya pada limbah organik dan berperan sebagai mikroba pengurai aktif.

Pengamatan makroskopis specimen memperlihatkan adanya miselium yang sangat halus, berwarna putih pada awal pertumbuhannya kemudian berangsur-angsur berwarna hijau gelap setelah miselium bertambah banyak dan jika telah tua. Menurut Arif (2008) bahwa mula-mula koloni *Trichoderma* berwarna hialin,

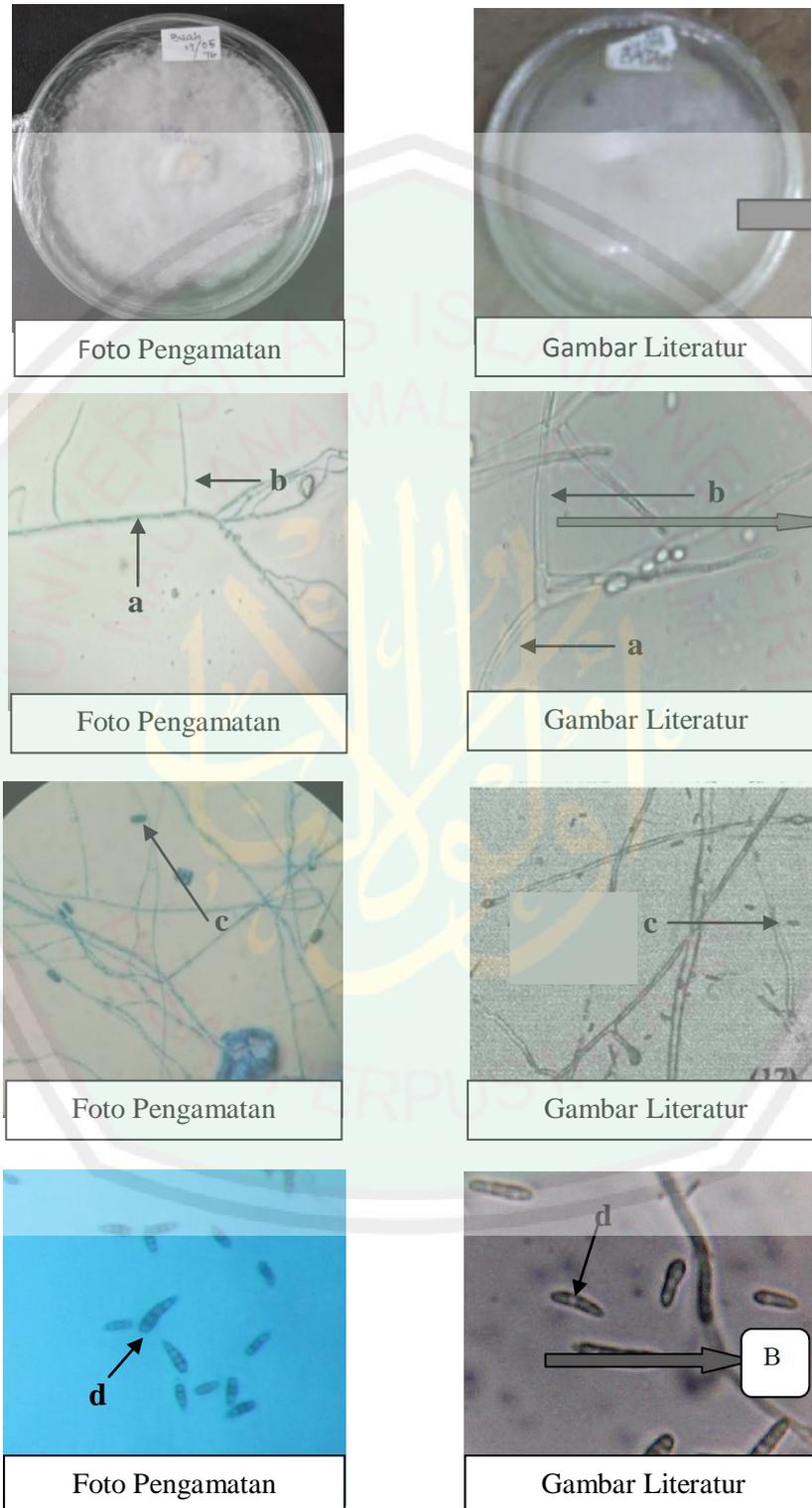
kemudian tampak seperti adanya bintik-bintik kecil atau bantalan-bantalan yang sering menjadi hijau karena konidium yang telah terbentuk.

Pernyataan tersebut diperkuat dengan pernyataan (Rifai, 1969) bahwa Secara makroskopis marga *Trichoderma* dapat dibedakan pada kecepatan pertumbuhannya dalam cawan petri. Marga ini dapat tumbuh dengan cepat dalam 5 hari pada suhu 25°C. Sebagian besar anggota dari marga *Trichoderma* membentuk koloni yang mempunyai warna yang berbeda dan membentuk koloni dengan zona lingkaran yang terlihat dalam cahaya.

Ciri mikroskopis menunjukkan adanya konidiofor yang memiliki banyak cabang, tetapi tidak melingkar. Segmen pucuk membentuk kelompok-kelompok konidia yang berbentuk oval dan berwarna hijau gelap jika berjumlah banyak. Pertumbuhannya cepat sekali. Ciri-ciri tersebut oleh Streets (1980) adalah karakteristik *Trichoderma*.

Menurut Domsch, *et al.* (1980) bahwa *Trichoderma* sp. mempunyai konidia yang berdinding halus, koloni mula-mula berwarna hialin, lalu menjadi putih kehijauan, dan selanjutnya hijau tua terutama pada bagian yang menunjukkan banyak terdapat konidia. Konidiofor dapat bercabang menyerupai piramida yaitu pada bagian bawah cabang lateral yang berulang-ulang, sedangkan semakin ke ujung percabangan menjadi bertambah pendek. Phialid tampak langsing dan panjang terutama pada apeks dari cabang. Konidia berbentuk semi bulat hingga oval pendek.

4.2.2 Isolat FB 2 (*Fusarium* sp.)



Gambar 4.3 Foto pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis FB2 (400x), serta Literatur *Fusarium* sp, (Sutejo, 2008).

Keterangan: a. Hifa, b. Konidiofor, c. Mikrokonidia, d. Makrokonidia

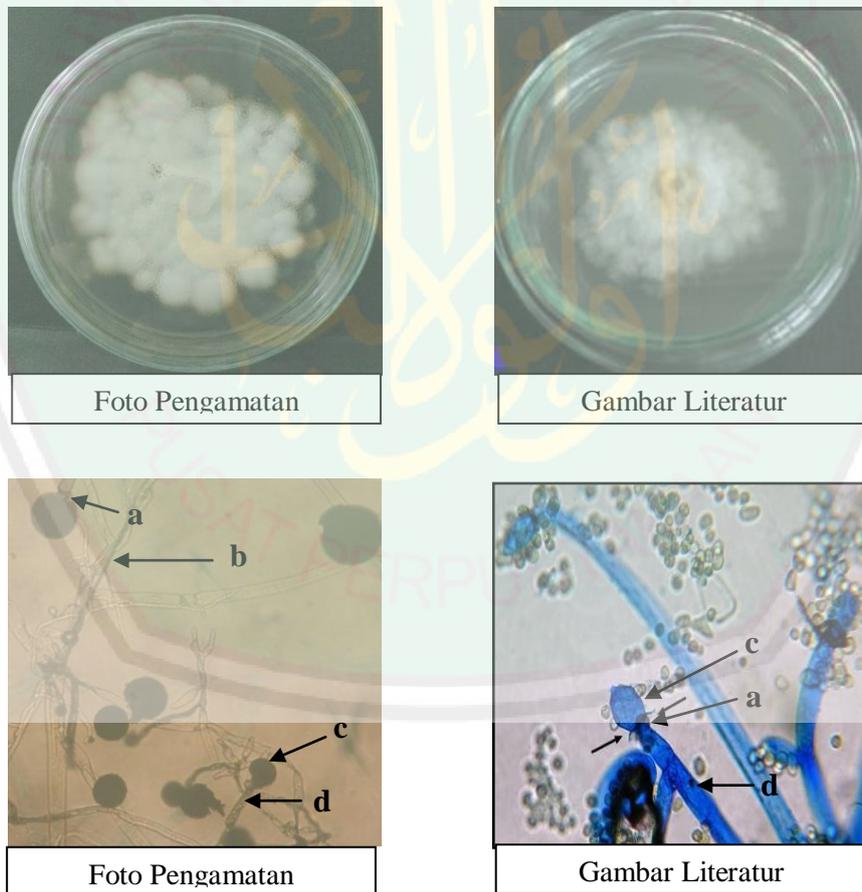
Pengamatan makroskopis pada isolat fungi FB2 memiliki bentuk koloni bulat, tepian koloni rata, permukaan koloni berserabut halus seperti kapas, miselium berwarna putih, warna tampak depan putih dan warna sebalik berwarna putih, tidak terdapat lingkaran konsentris. Pengamatan secara mikroskopis, isolat FB1 memiliki ciri hifa bersekat. Mikrokonidia berbentuk lonjong. Makrokonidia tersebar berbentuk silindris.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang telah dijelaskan di atas, dan setelah dibandingkan dengan buku petunjuk klasifikasi oleh Barnett (1972) maka dapat diketahui bahwa isolat FB2 termasuk genus *Fusarium* sp. *Fusarium* sp memiliki penyebaran miselium yang luas dan permukaan bagian atas tampak seperti kapas, dengan beberapa semburat merah muda, ungu, atau kuning pada permukaan sebaliknya. Miselium memiliki bagian seperti konidiofor yang berbentuk ramping dan sederhana, atau gemuk, pendek, bercabang tidak teratur, tunggal atau dikelompokkan ke dalam sporodoshia.

Fusarium sp memiliki makrokonidia dengan bentuk sedikit melengkung atau bengkok, di bagian ujungnya runcing, biasanya berbentuk kano. Mikrokonidia bersel1, memiliki bentuk bulat telur atau lonjong, tunggal atau dalam rantai. Beberapa konidia memiliki 2 atau 3sel, yang berbentuk lonjong atau sedikit melengkung. *Fusarium* spp. parasit pada tumbuhan tingkat tinggi atau saprofit pada bahan tanaman yang telah membusuk. *Fusarium* sp. adalah sebuah genus yang besar karena memiliki beberapa spesies, genus ini ditempatkan pada famili Tuberculariaceae karena beberapa spesies menghasilkan sporodoshia (Barnett, 1972).

Menurut Ellis, *et al* (2007), *Fusarium* spp. memiliki koloni yang berkembang pesat. Konidiofor berbentuk pendek, tunggal, monopodial lateral dalam miselium dan bercabang-cabang. Makrokonidia memiliki bentuk sedikit melengkung, bagian ujungnya runcing, sebagian besar memiliki tiga septa. *Fusarium* spp. memiliki banyak microconidia, tidak bergabung dalam rantai, sebagian besar tidak berseptata. Mikrokonidia berbentuk ellips ke silinder, lurus atau sedikit melengkung.

4.2.3 Isolat FD1 (*Mucor* sp.)



Gambar 4.4 Foto Pengamatan Makroskopis dan mikroskopis isolat FD 1 (400x), serta gambar Literatur *Mucor* sp (Yuri, 2011)

Keterangan: a. Kolumela, b. hifa c. sporangium, d. sporangiofor

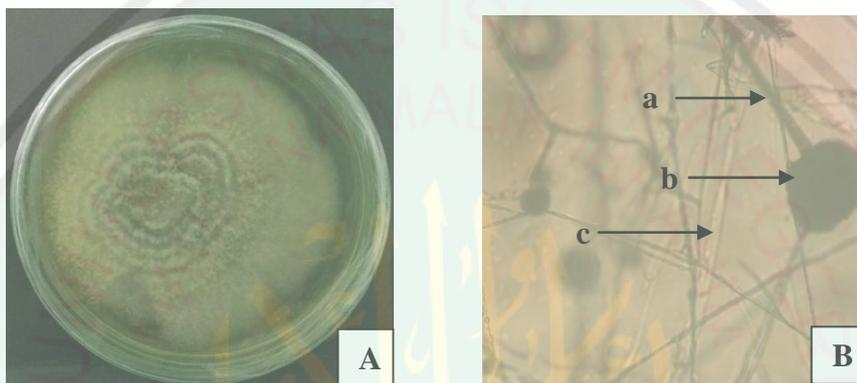
Hasil pengamatan pada isolat FD1 secara makroskopis memiliki ciri bentuk koloni bulat, tepi koloni tidak rata atau bergelombang, permukaan koloni berserabut halus. Pengamatan secara mikroskopis memiliki ciri hifa tidak bersekat. Terdapat sporangiospora yang berbentuk silindris dan tumbuh pada hampir seluruh miselia, koluella berbentuk bulat. Sporangium berbentuk bulat, dan tidak membentuk stolon. Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang telah dijelaskan di atas, dan setelah dibandingkan dengan buku petunjuk klasifikasi oleh Barnett (1972) maka dapat diketahui bahwa isolat FD 1 termasuk genus *Mucor* sp.

Menurut Barnett (1972) kebanyakan saprofit, tetapi beberapa spesies parasit pada tanaman atau jamur lain. Sporangium bulat, tunggal atau bercabang pada pucuk sporangiofor. Sporangiofor berbentuk sederhana. Hifa tidak bersepta, sederhana atau bercabang. Menurut Ellis, *et al* (2007) bahwa genus *mucor* dapat dibedakan dari *absidia*, *Rhizomucor*, dan *rhizopus* dengan tidak adanya rhizoid. Sporangiofora sederhana atau bercabang dan berbentuk apikal atau bulat. Sporangiofora hialin berwarna abu-abu atau kecoklatan. Secara makroskopis, pada awal pertumbuhannya berwarna putih kemudian menjadi putih keabu-abuan atau coklat keabuan ketika mulai tua dengan adanya perkembangan sporangia.

Pernyataan tersebut sesuai dengan pernyataan Domschet *al* (1980) bahwa warna koloni *mucor* putih dan selanjutnya menjadi coklat keabuan saat umur isolat lebih dari 7 hari. Warna sebaliknya koloni putih kekuningan. Sporangiofor bercabang (simpodial dan monopodial), ukuran sporangia beragam, tumbuh kolumella, berdinding agak kasar, bercabang, dan berdiameter 8-11 μm . Hifa

putih atau berwarna. Tinggi isolat beragam mulai 2-30 mm. Dinding sporangium hancur. Sporangium berwarna hialin. Sporangiospora berdinding halus, berbentuk lonjong hingga semi bulat. Hifa tidak bersepta. Kolumella berbentuk lonjong dengan dasar rata.

4.2.4 Isolat FD2



Gambar 4.5A. Foto Pengamatan Makroskopis dan B. Foto pengamatan mikroskopis Isolat FD2 (400x)

Keterangan: a. Sporangiofor, b. Sporangium, c. Hifa

Hasil pengamatan pada isolat FD2 secara makroskopis memiliki ciri bentuk koloni bulat dengan tepi tidak rata atau bergelombang. Permukaan koloni berserabut tipis. Koloni tampak depan putih keruh dengan tampak sebaliknya berwarna kuning kecoklatan. Hasil pengamatan secara mikroskopis memiliki ciri hifa tidak bersepta. Terdapat sporangiofor dan sporangium yang berbentuk lonjong. Tidak membentuk stolon.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang telah dijelaskan di atas, dan setelah dibandingkan dengan buku petunjuk klasifikasi oleh Barnett (1972) maka dapat diketahui bahwa isolat FD 2 juga termasuk genus *Mucor* sp dan filum Zygomycota seperti pada isolat FD 1.

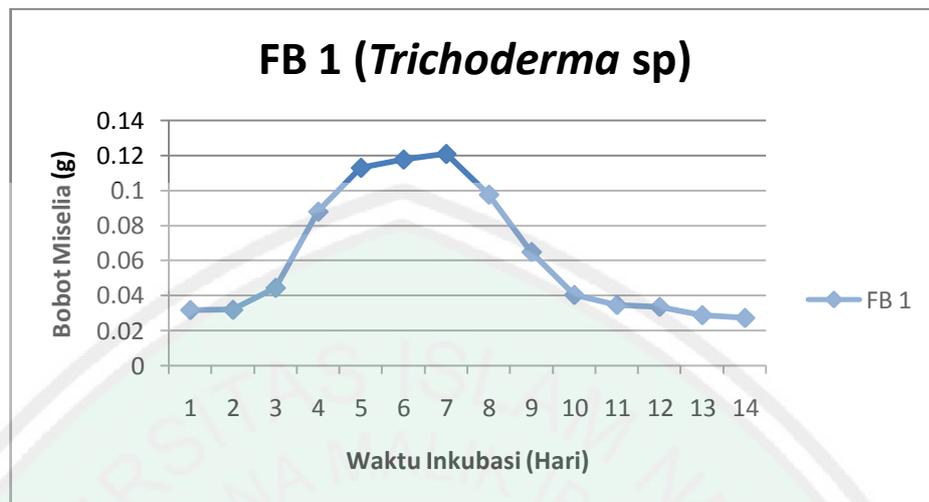
Marga *Mucor*, kelas Zygomycetes (perkembangbiakan secara seksual dengan zygospora yakni peleburan dua gametangium dan aseksual dengan spora yang diproduksi oleh sporangium), ordo Mucorales, famili Mucoraceae. Secara makroskopis jamur ini seperti *Rhizopus* sp. yakni miseliumnya seperti kapas tetapi warnanya lebih putih dibandingkan dengan *Rhizopus* sp. dan secara mikroskopis jamur ini memiliki stolon tetapi tidak memiliki rhizoid dan sporangiofornya lebih pendek dibanding dengan *Rhizopus* (Domsch, 1980).

Spora seksual berupa zigospora terbentuk dari pertemuan dua hifa dengan *matting type* yang berbeda. Spora aseksual berupa sporangiospora berada dalam sporangium. Sporangium melekat pada sporangiofor, yaitu hifa yang menopang sporangium. *Mucor* memiliki hifa yang tidak bersekat (*aseptate*). Terdapat percabangan pada sporangiofor (Benson, 2001).

Menurut Alexopolus *et al* (1996) bahwa genus *mucor* adalah kelompok cendawan yang kosmopolitandan biasanya bisa bertahan hidup sebagai saprofit, namun bisa juga sebagai parasit.

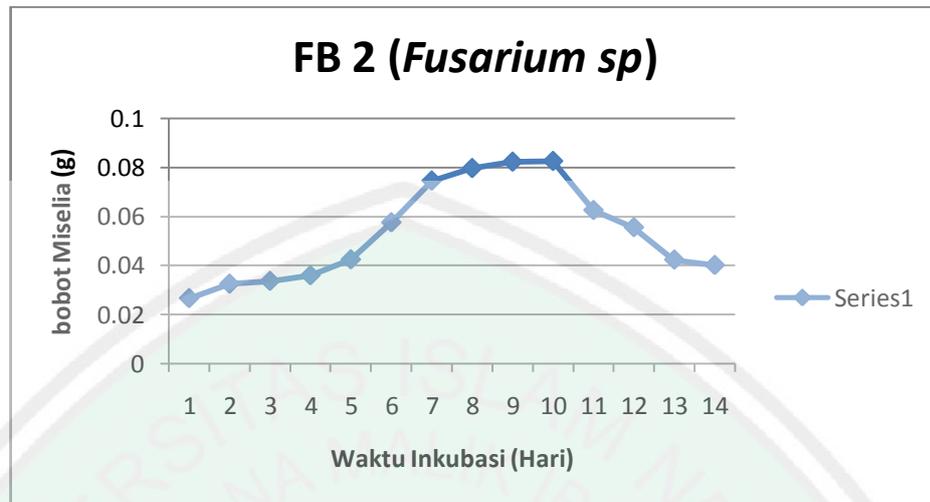
4.3 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit

Pertumbuhan isolat fungi endofit FB1, FB2, FD1, dan FD2 diukur untuk mengetahui laju pertumbuhan fungi yaitu dengan membuat kurva pertumbuhan sehingga dapat diketahui fase-fase pertumbuhan dari semua isolat fungi endofit (FB1, FB2, FD1, dan FD2) pada media biakan. Berikut adalah kurva pertumbuhan dari setiap isolat fungi endofit.



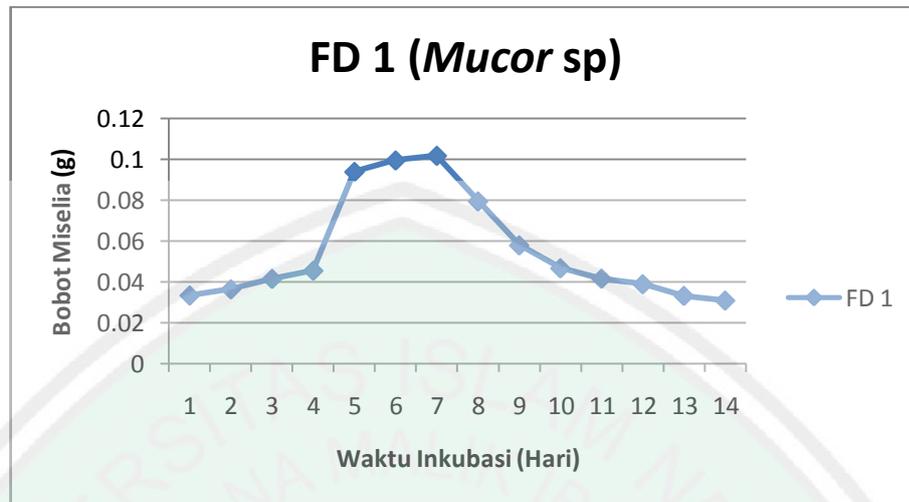
Gambar 4.6 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FB1(*Trichoderma* sp).

Kurva pertumbuhan fungi endofit FB1 menunjukkan bahwa waktu inkubasi mempunyai hubungan dengan fase pertumbuhan fungi endofit.. Berdasarkan kurva tersebut FB1 mengalami fase eksponensial dari hari ke-1 sampai hari ke-5, hal ini dapat terlihat pada kurva pertumbuhan yang menunjukkan peningkatan jumlah sel pada rentan hari tersebut. Setelah hari ke-5 sampai hari ke-7 pertumbuhan fungi endofit memasuki fase stasioner, dan setelah hari ke-7 pertumbuhan fungi endofit memasuki fase kematian. Berdasarkan fase pertumbuhan tersebut diketahui bahwa fase stasioner akhir terjadi pada hari ke-7.



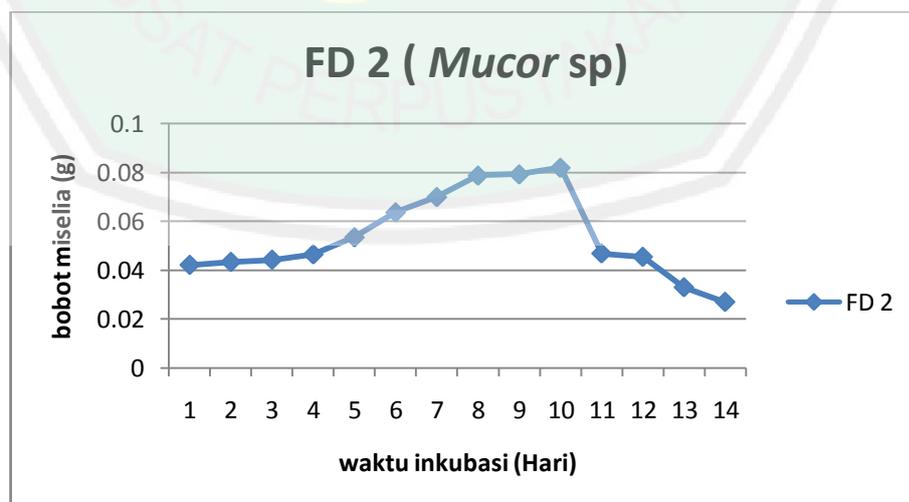
Gambar 4.7 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit FB2 (*Fusarium sp*).

Berdasarkan kurva tersebut, fungi endofit FB2 mengalami fase eksponensial dari hari ke-1 sampai hari ke-8, hal ini dapat terlihat pada kurva pertumbuhan yang menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah sel dengan ditandai adanya kenaikan kurva. Setelah hari ke-8 sampai hari ke-10, kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa pertumbuhan fungi endofit mulai memasuki fase stasioner. Melewati hari ke-10 fungi endofit memasuki fase kematian. Berdasarkan fase pertumbuhan tersebut diketahui bahwa fase stasioner akhir terjadi pada hari ke-10.



Gambar 4.8 Kurva pertumbuhan fungi endofit FD1 (*Mucor sp.*).

Kurva pertumbuhan FD1 menunjukkan bahwa pada hari ke-1 sampai hari ke-5, pertumbuhan fungi endofit memasuki fase eksponensial, dan pada hari ke-5 sampai hari ke-7 pertumbuhan fungi endofit memasuki fase stasioner, sedangkan setelah hari ke-7 pertumbuhan fungi endofit memasuki fase kematian. Berdasarkan fase pertumbuhan tersebut diketahui bahwa fase stasioner akhir terjadi pada hari ke-7.



Gambar 4.9 Kurva pertumbuhan fungi endofit FD2 (*Mucor sp.*).

Kurva pertumbuhan pada FD2 mengalami fase eksponensial pada hari ke-1 sampai ke-8. Setelah hari ke-8 sampai hari ke-10 pertumbuhan fungi endofit mengalami fase stasioner, dan setelah hari ke-10 pertumbuhan fungi endofit mengalami fase kematian. Berdasarkan fase pertumbuhan tersebut diketahui bahwa fase stasioner akhir terjadi pada hari ke-10.

Pada penelitian ini, pengambilan metabolit sekunder semua fungi adalah pada stasioner akhir yaitu FB1 pada hari ke-7, FB2 pada hari ke-10, FD1 pada hari ke-7, dan FD2 pada hari ke-10. Hal ini dimungkinkan karena pada stasioner akhir, sumber karbohidrat masih tersedia cukup untuk membentuk metabolit sekunder, walaupun nutrisi yang lain sudah mulai menyusut. Selain itu karena pembentukan metabolit sekunder yang paling optimum terjadi pada fase stasioner akhir. Sebagaimana menurut Pelczar (1988) bahwa metabolit sekunder dihasilkan oleh mikroorganisme pada fase stasioner pertumbuhannya. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhan sel yaitu pada fase stasioner. Pada masa ini, jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.

Pernyataan tersebut didukung oleh pernyataan Elita (2013) yang menyatakan bahwa metabolit sekunder dihasilkan oleh mikroorganisme pada fase stasioner yaitu pada akhir fase stasioner pertumbuhannya. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhan sel yaitu pada fase stasioner. Pada masa ini, jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.

Elita (2013) menambahkan sintesis metabolit sekunder dimulai pada saat beberapa zat gizi di dalam media pertumbuhan mikroorganisme telah habis. Keterbatasan zat gizi tersebut menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder. Pratiwi (2015) menjelaskan metabolit sekunder biasanya diproduksi pada akhir fase stasioner. Pada fase ini sel mikroorganisme lebih tahan terhadap keadaan ekstrim, misalnya suhu yang lebih panas atau dingin, radiasi, bahan-bahan kimia, dan metabolit yang dihasilkannya sendiri seperti antibiotik. Sintesis metabolit sekunder dimulai pada saat mulai habisnya beberapa komponen utama nutrisi pada media pertumbuhan. Keterbatasan sumber utama sintesis tersebut antara lain gula sebagai sumber karbon dan protein sebagai sumber asam amino dan nitrogen. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya pelepasan zat-zat hasil proses katabolisme yang merupakan metabolit sekunder.

Metabolit sekunder merupakan suatu produk metabolit yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Metabolit sekunder tidak diproduksi pada saat fase logaritmik, tetapi biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhan sel, yaitu pada fase stasioner saat populasi sel tetap (Pratiwi, 2015).

Pada fase stasioner diduga sel-sel fungi endofit lebih tahan terhadap keadaan ekstrim, seperti suhu (lebih panas atau lebih dingin), radiasi bahan kimia dan metabolit sekunder yang dihasilkannya sendiri. Sintesis metabolit sekunder dimulai pada saat mulai habisnya beberapa komponen utama nutrisi pada media pertumbuhan. Keterbatasan sumber utama sintesis tersebut antara lain gula

sebagai sumber karbon dan protein sebagai sumber asam amino atau nitrogen. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya pelepasan zat-zat hasil proses katabolisme yang merupakan metabolit sekunder. Memasuki fase kematian, jumlah sel fungi endofit semakin berkurang dan tidak ada penambahan jumlah sel fungi. Hal ini terjadi karena nutrisi dalam media serta cadangan makanan di dalam sel telah habis (Srikandace, 2007).

Menurut Rachman (1989), fase pertumbuhan stasioner merupakan fase dimana fungi endofit menghasilkan metabolit sekunder, pada saat ini aktivitas metabolit fungi sangat menentukan aktivitas antioksidan karena fungi endofit telah siap mensekresikan metabolitnya yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Oleh karena itu, langkah selanjutnya setelah dilakukan pengukuran pertumbuhan fungi endofit (FB1, FB2, FD1, dan FD2) dan telah mengetahui fase stasioner untuk masing-masing fungi endofit. Selanjutnya dilakukan fermentasi dan uji metabolit sekunder fungi endofit untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif yang dihasilkan fungi endofit selama fase stasioner sebagai antioksidan dengan mengukur persentase aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

4.4 Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit

Produksi metabolit sekunder dari fungi endofit yang berhasil diisolasi dilakukan dengan cara fermentasi, yang dimulai dengan membuat starter yaitu dengan meletakkan tiga potongan fungi ke dalam medium pembedahan PDY kemudian di shaker inkubator sesuai dengan lama waktu pertumbuhan fungi mencapai fase stasioner dalam kurva pertumbuhan masing-masing fungi. Selama

fase stasioner metabolit sekunder akan dibentuk dan pada akhir tahap ini proses fermentasi dihentikan. Proses fermentasi dibantu dengan pengocokan menggunakan shaker inkubator, perlakuan ini bertujuan untuk memberikan pertumbuhan mikroba yang lebih homogen didalam medium.

Pada saat fermentasi, warna medium PDY akan mengalami perubahan menjadi berwarna kuning keruh yang awalnya kuning bening seperti yang terjadi pada sampel FB1, kuning kecoklatan pada sampel FB 2, berwarna putih keruh pada sampel FD1, dan berwarna hijau kecoklatan pada sampel FD2. Sebagaimana yang terlihat pada lampiran 5.1.

Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya aktivitas dari fungi dalam memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam medium PDY selama proses fermentasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Jauhari (2010), yang menyatakan bahwa perubahan warna substrat dapat dikarenakan adanya aktivitas fungi endofit atau proses metabolisme fungi dalam memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam medium.

Hal tersebut juga didukung oleh pernyataan Gandjar (2006) bahwa pertumbuhan fungi dapat diketahui dari penambahan massa sel dan proses metabolisme fungi yang menyebabkan perubahan pada substrat yaitu timbulnya perubahan warna atau kekeruhan pada substrat cair. Medium yang semula bening akan berubah menjadi keruh karena adanya aktivitas dari fungi. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa fungi endofit mengalami pertumbuhan dan menghasilkan metabolit dalam medium fermentasi PDY.

Hasil fermentasi kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (partisi). Metode ini digunakan karena menurut Khopkar (2008), metode ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen target larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa dalam pelarut nonpolar) sehingga mudah dalam pengambilan komponen senyawa target yang diinginkan.

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini yaitu etil asetat dan metanol p.a. Menurut hasil penelitian Arora (2009) menunjukkan bahwa etil asetat merupakan pelarut organik yang paling baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Sedangkan pelarut metanol p.a digunakan menurut Nimah (2012) bahwa pelarut ini secara efektif dapat mengesktrak senyawa-senyawa polar seperti flavonoid, fenolik, dan saponin.

4.5 Uji Metabolit Sekunder Fungi Endofit dalam Menghasilkan Senyawa Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan metabolit sekunder fungi endofit dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal bebas beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis. Metode DPPH telah digunakan secara luas untuk

menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen (Prakash,2001) .

Pengujian aktivitas antioksidan metabolit sekunder fungi endofit dari buah dan daun strawberry serta asam askorbat sebagai pembanding diawali dengan penentuan panjang gelombang (λ) maksimum. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana sampel (DPPH) menunjukkan serapan maksimum (absorbansi paling besar). Berdasarkan hasil pengujian dengan spektrofotometer UV-Vis didapatkan λ maksimum sebesar 515nm. Panjang gelombang 515 nm kemudian digunakan untuk setiap pengukuran aktivitas antioksidan dalam penelitian ini.

Pada tahap pengujian antioksidan menggunakan perlakuan inkubasi dengan suhu 37⁰C selama 30 menit. Menurut Lailiyah (2014) bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan dibandingkan sampel yang tidak diinkubasi. Pada suhu ini diduga sampel antioksidan bereaksi dengan baik dengan DPPH. Diduga suhu yang telah terkondisikan ini dapat mempercepat terjadinya reaksi antara sampel antioksidan dengan DPPH. Menurut Yuswantina (2011) bahwa inkubasi selama waktu yang didapat menunjukkan bahwa sampel yang mengandung antioksidan telah optimum dalam meredam radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil.

Hasil uji senyawa antioksidan dari berbagai konsentrasi sampel mengalami perubahan warna. Berdasarkan hasil penelitian pada isolat *Trichoderma* sp (FB1) mengalami perubahan warna dari warna ungu menjadi warna kuning pada semua

konsentrasi. Pada isolat *Fusarium* sp (FB2) mengalami perubahan warna yaitu ungu pudar pada konsentrasi 10 ppm dan berwarna kuning pada konsentrasi 50 ppm sampai 200 ppm.

Pada isolat *Mucor* sp (FD1) dan isolat *Mucor* sp (FD2) mengalami perubahan warna ungu pudar pada konsentrasi 10 ppm sampai 200 ppm. Pada sampel Asam askorbat yang dijadikan sebagai pembanding atau kontrol positif, mengalami perubahan warna yakni berwarna kuning pada semua konsentrasi. Perubahan warna tersebut disajikan dalam lampiran 5.2. Perbedaan perubahan warna pada sampel dapat disebabkan karena sampel memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat radikal bebas. Sedangkan asam askorbat merupakan antioksidan sintetis sehingga dalam konsentrasi kecil pun sudah mampu untuk mengikat radikal bebas.

Menurut Sunarni (2007) bahwa suatu radikal sintetis yang stabil dalam larutan air atau metanol mampu menerima sebuah elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul diamagnetik yang stabil. DPPH pada uji ini ditangkap oleh antioksidan yang melepas hidrogen, sehingga membentuk DPPH tereduksi. Hal inilah yang menyebabkan perubahan warna pada sampel yang mengandung senyawa antioksidan.

Menurut Husnah (2009) bahwa perubahan warna ungu menjadi kuning seiring dengan menurunnya absorptivitas molar dari molekul DPPH karena elektron yang tidak berpasangan dengan adanya pemberian atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H tereduksi(1,1-difenil-2-pikrilhidrazin). Reaksi peredaman ditunjukkan dengan perubahan warna radikal bebas DPPH yang

berwarna ungu membentuk senyawa stabil non-radikal yang berwarna kuning (Bougatef, *et al.*, 2009).

Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat).

4.5.1 Hasil Absorbansi Senyawa Antioksidan Metabolit Sekunder Fungi Endofit.

Hasil absorbansi senyawa antioksidan dari metabolit sekunder fungi endofit yang telah dilakukan, diketahui bahwa semua sampel mempunyai nilai absorbansi yang berbeda-beda sebagaimana yang telah disajikan pada lampiran 5.3. Data absorbansi tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak metabolit sekunder fungi maka semakin rendah absorbansi yang dihasilkan.

Menurut Amrun dan Umiyah (2007) menyatakan bahwa adanya penurunan absorbansi menunjukkan peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Hal tersebut berarti konsentrasi yang tinggi juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan masing-masing sampel dinyatakan dalam persentase aktivitas antioksidan.

Hasil nilai absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan sampel dan pembanding asam askorbat. Berdasarkan data tersebut juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, maka semakin

tinggi presentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Pada uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Menurut Molyneux (2004) nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari waktu ke waktu dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan *baseline* untuk pengukuran saat itu. Oleh karenanya dalam penelitian ini dilakukan pengukuran absorbansi kontrol setiap melakukan pengukuran absorbansi sampel agar dapat mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran.

4.5.2 Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit.

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % peredaman atau penghambatan (Wijaya,2012). Adapun data % aktivitas antioksidan dari semua ekstrak dan pembanding asam askorbat setiap konsentrasi disajikan dalam tabel berikut ini.

Tabel 4.2 Hasil % Aktivitas Antioksidan pada Supernatan

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			
	FB1	FB2	FD1	FD2
10	20,22	8,44	18,88	11,29
50	37,22	43,16	31,29	18,70
100	56,39	51,48	39,25	27,34
150	67,83	60,92	46,07	41,21
200	78,77	64,01	59,57	55,97

Tabel 4.3 Hasil % Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat Sebagai Pembanding

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)
3	78,33
6	83,63
9	83,99
12	89,29
15	89,55

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak mempunyai hubungan searah yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya sampai pada konsentrasi tertentu menjadi cenderung konstan dan menurun. Namun penambahan jumlah konsentrasi yang semakin besar juga akan dapat memberikan pengaruh berlawanan arah yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil persen aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan konsentrasi tertinggi sampai dengan 200 ppm dan pada asam askorbat menggunakan konsentrasi tertinggi sampai dengan 15 ppm, hal tersebut berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan.

Kemampuan antioksidan mulai melemah pada konsentrasi yang besar. Hal ini dikarenakan menurut Husnah (2009) bahwa walaupun terdapat hubungan

searah antara konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas antioksidan, akan tetapi besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan di uji (Gordon, 1990 dalam Trilaksani, 2003). Sehingga antioksidan dapat bertindak sebagai prooksidan atau faktor - faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi pada konsentrasi tertinggi.

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat merubah aktivitas antioksidan apabila melebihi batas sehingga dapat merubah fungsi aktivitasnya yaitu dari aktivitas sebagai antioksidan berubah menjadi aktivitas sebagai prooksidan. Hal ini serasi dengan Firman Allah dalam QS. Al-A'raf (7) ayat 31:

تَحِبُّ لَآئِنَهُ تَسْرِفُوْا وَلَا وَاشْرَبُوْا وَكُلُوْا مَسْجِدٍ كُلِّ عِنْدَ زَيْنَتِكُمْ خُذُوا اَدَمَ يَبْنِيْ
 الْمُسْرِفِيْنَ

Artinya: *“Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di Setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.”* (QS. Al-A'raf/7: 31)

Maksud dari ayat diatas adalah janganlah melampaui batas yang dibutuhkan oleh tubuh dan jangan pula melampaui batas-batas makanan meskipun itu dihalalkan. Karena makanan yang berlebihan untuk tubuh itu tidak baik dan malah akan menimbulkan bahaya (suatu penyakit) tertentu.

Berdasarkan hasil persen aktivitas antioksidan yang diperoleh tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan persamaan regresi non-linear untuk

mengukur ada atau tidaknya korelasi (hubungan) antar variabel pada software “Graphad Prism7”, serta mengetahui nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) pada setiap aktivitas antioksidan sampel sehingga dapat diketahui seberapa kuat senyawa antioksidan yang dihasilkan. Berikut nilai R^2 dan IC_{50} ditunjukkan pada tabel 4.7:

Tabel 4.4 Hasil Nilai Regresi dan Nilai IC_{50} Sampel

No	Sampel	Nilai R^2	IC_{50} (ppm)	Keterangan
1	FB 1 (<i>Trichoderma</i> sp.)	0,9555	68,09	Kuat
2	FB 2 (<i>Fusarium</i> sp.)	0,9678	89,4	Kuat
3	FD 1 (<i>Mucor</i> sp.)	0,9222	159,7	Lemah
4	FD 2 (<i>Mucor</i> sp.)	0,9105	193,3	Lemah
5	Asam askorbat	0,9131	0,25	Sangat kuat

Hubungan tersebut ditunjukkan dengan nilai R^2 (Koefisien determinasi) yang menunjukkan kontribusi variabel x terhadap y, artinya variabel bebas x mempengaruhi variabel bebas y sebesar R^2 . Misalnya nilai R^2 dari ekstrak metabolit sekunder FB1 0,9555 maka konsentrasi ekstrak mempengaruhi persen aktivitas antioksidan sebesar 0,9555.

Berdasarkan tabel 4.4 tersebut juga menunjukkan bahwa IC_{50} dari masing-masing ekstrak mempunyai nilai yang berbeda-beda. *Inhibition*

concentration(IC_{50}) atau harga konsentrasi efisien/ *Efficient Concentration* (EC_{50}) adalah parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan. Nilai ini merupakan konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50 % DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga IC_{50} atau EC_{50} yang rendah dan sebaliknya. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkapan radikal bebas yang lebih baik (Cholisoh, 2008).

Jun,*et al* (2011) menyatakan secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat (IC_{50} 51-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-150 ppm), lemah (IC_{50} 151-200 ppm), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm). Berdasarkan kriteria tersebut, pada ekstrak isolat FB1 dan FB2 masuk dalam kategori dengan aktivitas antioksidan kuat, sedangkan FD1 dan FD2 masuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang lemah. Namun aktivitas antioksidan semua sampel tersebut lebih rendah bila dibandingkan dengan asam askorbat yang tergolong kategori dengan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Hasil pada tabel tersebut juga menunjukkan bahwa IC_{50} ekstrak metabolit sekunder paling tinggi adalah pada FB1 yaitu sebesar 68,09 ppm. Artinya dengan penambahan antioksidan dari ekstrak metabolit sekunder sebanyak 68,09 ppm akan menangkap radikal bebas sebanyak 50% dari total radikal bebas. Hal ini juga menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder FB1 mampu menangkap radikal dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metabolit sekunder yg lain dalam jumlah radikal yang sama.

Pada penelitian ini asam askorbat digunakan sebagai pembanding dan hasil uji memiliki daya antioksidan yang sangat kuat yaitu 1,4 ppm. Sebagaimana menurut Sandhiutami (2011) bahwa semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak metabolit sekunder semua sampel memiliki efektivitas yang rendah dibandingkan dengan asam askorbat.

Meskipun aktivitas antioksidan pada asam askorbat lebih tinggi dari pada ekstrak metabolit sekunder semua sampel, akan tetapi ekstrak tersebut dapat digunakan sebagai pengganti antioksidan sintetik. Dalam penelitian ini tidak memakai pembanding berupa antioksidan sintetik seperti BHT atau BHA dikarenakan terbuksi karsinogenik. Purwanti (2009) menyebutkan bahwa antioksidan sintetik seperti *Butyl Hidroksi Anisol* (BHA) dan *Butyl HidroksiToluen* (BHT) saat ini penggunaannya mulai dibatasi. Hasil penelitian Ford *et al* (1980); Indriati (2002) menunjukkan bahwa antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik, sehingga akan membahayakan bagi kesehatan.

Berdasarkan data hasil penelitian, ekstrak metabolit sekunder dari semua sampel terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, hal ini diduga karena setiap spesies fungi memiliki kemampuan yang berbeda dalam memproduksi senyawa metabolit. Menurut Pratiwi (2008), spesies mikroorganisme tertentu mungkin mampu memproduksi beberapa macam metabolit sekunder, sedangkan spesies lain hanya satu atau dua macam metabolit sekunder saja.

Adanya aktivitas antioksidan ini diduga karena terdapat senyawa aktif polar dari beberapa golongan antioksidan. Dari hasil uji fitokimia pada penelitian terhadap ekstrak buah strawberry yang telah dilakukan oleh Rahayuningsih (2015) membuktikan bahwa ekstrak buah strawberry mengandung flavonoid, kuinon, saponin, dan tanin. Dimana golongan tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan. Sedangkan penelitian ekstrak daun strawberry salah satunya yang dilakukan oleh Joe king (2013) bahwa daun strawberry mengandung tannin.

Menurut Nidjveldt (2001) bahwa flavonoid merupakan antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas dengan membebaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya, dikatakan juga bahwa flavonoid dapat menghalangi reaksi oksidasi LDL dalam tubuh. Pernyataan tersebut juga didukung oleh pernyataan Svarcova (2007) bahwa strawberry mengandung asam askorbat dan senyawa phenolik yang terdiri dari asam fenolat, anthosianin, protosianidin, tanin dan flavonoid. Efek dari senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan.

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada buah dan daun strawberry yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antioksidan menjadi acuan untuk meneliti lebih lanjut mengenai mikroba yang berperan didalamnya yaitu fungi endofit. Menurut Radji (2005) bahwa fungi endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini disebabkan oleh transfer genetik akibat koevolusi antara fungi endofit dengan tanaman inangnya .

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai aktivitas antioksidan ekstrak metabolit sekunder pada tiga isolat yang telah berhasil ditemukan yaitu genus *Trichoderma* sp, *Fusarium* sp, dan *Mucor* sp diduga tiga fungi tersebut juga

menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Noguchi *et al* (2008) bahwa pada uji fitokimia *Trichoderma* sp dapat menghasilkan senyawa flavonoid dan banyak dari anggota senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Murthy, *et al* (2011) menunjukkan bahwa *Fusarium* dan *Mucor* juga dapat menghasilkan senyawa antioksidan, dimana senyawa antioksidan yang dihasilkan *Fusarium* yaitu flavonoid sedangkan senyawa antioksidan yang dihasilkan *Mucor* yaitu saponin.

Berdasarkan hasil penelitian mengenai isolasi, identifikasi, serta uji senyawa metabolit sekunder fungi endofit dari buah dan daun strawberry yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan, maka dapat diambil banyak pelajaran didalamnya yang mengingatkan kita akan bukti kekuasaan dan maha pemurahnya Allah bahwa segala yang diciptakanNya tidak ada yang sia-sia, termasuk fungi endofit yang berukuran mikro ternyata mempunyai manfaat yang luar biasa. Hal ini sebagaimana tertulis pada firman Allah SWT surat Ali Imran (3) ayat 190-191:

﴿الْأَلْبَابِ لِأُولَىٰ لَيْتٍ وَالنَّهَارِ اللَّيْلِ وَآخْتَلَفُوا الْأَرْضِ السَّمَوَاتِ خَلْقٍ فِي إِنْ
ضِ السَّمَوَاتِ خَلْقٍ فِي وَيَتَفَكَّرُونَ جُنُوبِهِمْ وَعَلَىٰ وَقُعُودًا قِيمًا اللَّهُ يَذْكُرُونَ الَّذِينَ
النَّارِ عَذَابٍ فَاقْنَاهُ سُبْحَانَكَ بَطِلاً هَذَا خَلَقْتَ مَا رَبَّتْنَا وَالْأَرْضِ﴾

Artinya : Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau

duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (Ali-Imran (3) : 190-191).

Ayat tersebut menjelaskan bagaimana Allah menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan sebaik-baiknya, dan disetiap penciptaan terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal dengan mengingat, memikirkan, serta mempelajari apa yang telah diciptakanNya. Dalam hal ini termasuk mempelajari makhluk hidup yang diciptakan Allah dengan ukuran kecil namun ternyata didalamnya mengandung banyak manfaat bagi manusia yaitu fungi endofit yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antioksidan.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari metabolit sekunder semua fungi hasil penelitian ini nantinya juga dapat digunakan sebagai salah satu terobosan pemanfaatan fungi dalam bidang mikrobiologi kesehatan khususnya sebagai pengganti obat sintetik dalam menangani penyakit akibat radikal bebas. Penelitian ini hanya merupakan upaya kecil dari tangan manusia, karena kebenaran mutlak hanyalah milik Allah SWT.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Fungi endofit yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari buah strawberry sebanyak 2 isolat yaitu genus *Trichoderma* sp untuk kode isolat FB1 dan *Fusarium* sp untuk kode isolat FB2. Sedangkan pada daun strawberry sebanyak 2 isolat yaitu genus *Mucor* sp untuk kode isolat FD1 dan FD2.
2. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fungi endofit dari daun dan buah strawberry memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} . Ekstrakmetabolit sekunder *Trichoderma* sp (FB1) sebesar 68,09 ppm tergolong kuat. Pada *Fusarium* sp (FB2) sebesar 89,44 ppm tergolong kuat. Pada *Mucor* sp (FD1) sebesar 159,7 ppm tergolong lemah. Pada *Mucor* sp (FD2) sebesar 193,3 ppm tergolong lemah.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan identifikasi lanjutan fungi endofit yang berhasil diisolasi sampai pada tahap spesies dan uji secara *invivo* pada hewan coba.
2. Perlu dilakukan uji fitokimia terhadap metabolit sekunder fungi endofit untuk mengetahui golongan senyawa antioksidan yang dihasilkan serta uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, D., Putt, D., Kresty, L., Stoner, G.D., Fromm, D., and Hollenberg, P.F. 1996. The effects of dietary ellagic acid on rat hepatic and esophageal mucosal cytochromes P450 and phase enzymes. *J Carcinogenesis*. Vol 17: 821-828.
- Alexopolus, C.J., CW.1996. *Introductory mycology.Fourth Edition*. Jhon Willey and Sons, Inc. New York,US.
- Al-Mahally, Jalaluddin. Imam, As-Sayuthi. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung. Sinar Baru Algensindo.
- Al Imam Jalaluddin Muhammad dan Al Jalaluddin Asy-Syuyuthi. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba.
- Alisi CS, dan Onyeze GOC. 2008. Nitrite oxide scavenging ability of ethyl acetate fraction of methanolic leaf extracts of *Chromolaena odorata* (Linn.). *Afr J Bio Res..* Vol. 2. Hal. 145-150.
- Al-Maraghi, Ahmad Mustofa. 1989. *Tafsir Al-Maraghi Juz 21* (Penerjemah: Bahrn Abu Bakar, Lc., Hery Noer Aly dan K. Anshori Umar Sitanggal). Semarang : Toha Putra Semarang.
- Al-Maraghi, Ahmad Mustofa. 1992. *Tafsir Al-Maraghi Juz 6*. (Penerjemah: Bahrn Abu Bakar, Lc., Hery Noer Aly dan K. Anshori Umar Sitanggal). Semarang: Toha Putra Semarang.
- Al-Najjar, Zaghulul. 2010. *Buku Induk Mukjizat Ilmiah Hadits Nabi*. Penerjemah Yodi Indrayadi dan tim penerjemah Zaman. Jakarta: Zaman.
- Amarta. 2009. Budidaya Hortikultura Yang Baik (GAP), Pengendalian Hama yang Baik (GPP), Penanganan Panen dan Pasca Panen Yang Baik (GHP). *Materi pada Pelatihan Budidaya Stroberi*. Jawa Barat: Naskah Publikasi.
- Amrun. HM., Umiyah. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L) dari daerah Jember. *Berkala Penelitian Hayati*. Vol 13.
- Andhikawati, Aulia, Yulia Oktavia., Bustami Ibrahim, dan Kustiariyah Tarman. 2014. Isolasi dan Penapisan Kapang Laut Endofit Penghasil Selulase. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol.6. No.1, Hal : 219-227.
- Ariastiwi, Dini Ayu. 2014. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antioksidan Dari Tanaman *Kleinhovia hospita* Linn. *Skripsi*. Makassar : Universitas Hasanuddin.

- Arif, Astuti, Musrizal Muin, Tutik Kuswinanti, dan Rahmawati. 2008. Isolasi dan Identifikasi Jamur Kayu dari Hutan Pendidikan Universitas Hasannudin di Bengo-bengo Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros. *Jurnal Parennial*. Vol 5 No 1.
- Arora, Daljit S. 2009. Assay of Antioxidant Potential Of Two *Aspergillus* Isolates By Different Methods Under Various Physio-Chemical Conditions.. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol 41: 765-777.
- Arts MJ, Haenan GR, Wilms LC, Beetstra, Hajinen, Voss, dan Bast. 2004. Interaction Between Flafonoids and Proteins: Effect on the Total Antioxidant Capacity. *J Agric FoodChem*. 50:1184-1187.
- Astawan, Made. 2008. *Khasiat Warna-warni Makanan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Asy-Shiddieqy, Tengku Muhammad H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur. Jilid 3(Surat 24-41)*. Semarang : Pustaka Rizqi Putra.
- Azizah, S.K. 2013. Aktivitas antioksidan Ekstrak Isolat-isolat kapang dari tanaman Mangrove. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN syarif Hidayatullah Jakarta.
- Barnett, H. L. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Second Edition. Virginia: Burgess Publishing Company.
- Benson, H.J. 2001. *Microbiological application: Laboratory manual in generalmicrobiology*. The McGraw-Hills Company, Inc., New York.
- Bougatef, A., Muhammed, H.,rafik,B.,Imen, L.,Yosra, T.E. & Moncef, N. 2009. Antioxidant and Free Radical-Scavenging Activities of Smooth Hound (Mustelus) Muscle Protein Hydrolysates by Gastrointestinal Proteases. *Food Chemical*. 114,1198-1205.
- Budiman Supriyatin, dan Desi Saraswati. 2010. Berkebun Stroberi Secara Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Buricova Lucie,Andjelkovic, Reblova, Jurcek, O. 2011. Antioxidant Capacity and Antioxidants of Strawberry, Blacberry, and Rasberry Leaves. *Journal Food Science*. Vol 29 No 2 hal 181-189.
- Clay, K. 1988. Fungal Endophytes of Grasses: a Defensive Mutualism Between Plants and Fungi. *Journal of Ecology*. Vol. 69, No. 1, Hal. 10-16.
- Campbell NA, Reece, Jane BM, and Lawrence G. 1999.*Biologi 5th ed. Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.

- Cholisoh, Z. 2008. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacol J*,9(1),33–40.
- Darwis, V. 2007. *Budidaya, Analisis Usahatani, Dan Kemitraan Stroberi Tabanan Bali*. Jakarta:Pusat Analisis Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian.
- Data Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan RI dan Data Penduduk Sasaran, Pusdatin*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. www.depkes.go.id(diakses tanggal 01 Maret 2016).
- Day, J., Underwood. 1988. *Analisis Kimia Kuantitatif*, Jakarta: Erlangga.
- Direktorat Gizi Depkes. RI. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Dompeipen, Edward J, Simanjuntak Partomuan. 2015. Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Kapang Endofit dari Tanaman Mahoni (*Swietenia macrophylla* King).*Journal Biopropal Industri*. Vol 6 No 1.
- Domsch K. H., W. Gams., T-H Anderson. 1980. *Compendium Of Soil Fungi*. . London: *Academic Press*.
- Droge W. 2002. Free Radicals in The Physiological control of Cell Function. *Physiol Rev*. Vol 8 No 2. 47-95.
- Ediningsari AR. 2006. *Identifikasi Khamir*. Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 22-25.
- Elita, A.Saryono, S dan Christine J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Jamur Endofit dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia virabilis*). *Jurnal Indo Che Acta*.3(2).
- Ellis, David, Stephen Davis, Helen Alexiou, Rosemary Handke dan Robyn Bartley. 2007. *Descriptions of Medical Fungi Second Edition*. Australia: School of Molecular & Biomedical Science University of Adelaide.
- Emsley, B. 2007. Strawberry-Champagne good for health, says science. Royal Society of Chemistry.
- Farooqi, 2005. *Terapi Herbal Cara Islam*. Jakarta: Mizan Publik.
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar Sjamsuridzal dan Ariyanto Oetari. 2006. *Mikologi : Dasar dan Terapan*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.

- Giampieri Francesca, et al, 2012. The Strawberry: Composition, Nutritional Quality, and Impact on Human Health. *Journal Nutrition*. Vol 28. Hal 9-19.
- Guenther. E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid 1 (Terjemahan)*. Jakarta: UI Press.
- Gusnawaty HS, 2014. Karakterisasi morfologis *Trichoderma* spp. Indegenus Sulawesi Tenggara. *Jurnal Agroteknos*. Vol 4 No 2.
- Halliwell B, and Gutteridge JMC. 1992. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*.
- Halliwell, B. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. New York: Oxford University Press.
- Hanani, M. 2005. Identifikasi Senyawa antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp Dari Kepulauan Seribu . *Majalah Ilmu Kefarmasian*, II (3): 127-133.
- Haniah, Miftachul. 2008. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hannum, S.M., 2004, Potential Impact of Strawberry on Human Health : a review of the science. *Cnt Rev Food Sci Nutr*. Vol 44 No 1 Hal:1-17.
- Hidayah, Nurul. 2010. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Umbi Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap bakteri *Sterptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (UIN) MALIKI Malang.
- Hipol, Roland M, Magtoto LM, Minette Sigrid, Tamang, and Amor. 2014. Antioxidant Activities of Fungal Endophytes Isolated from Strawberry *Fragaria x ananassa* Fruit. *Electronic Journal of Biology*. Vol 10 No 4.
- Husnah, M. 2009. Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang; UIN Malang.
- Ibnu Katsier. 1988. *Tafsir Ibnu Katsier Jilid 1*, dan *Jilid 4* (Penerjemah: H. Salim Bahreisy dan H. Said Bakhreisy). Kuala Lumpur: Victory Agencie.

- Ilmiyah, Zumrotul. Mahanani, dan Yunimar. 2015. Uji Antagonisme Jamur Endofit Tanaman Stroberi terhadap *Alternaria alternata* Jamur Penyebab Bercak Daun pada Tanaman Stroberi Secara *In Vitro*. *Jurnal Lentera Biologi*. Vol 4 No 1.
- Indriati, A. 2002. *Analisis Aktivitas Antioksidan pada Buah Jambu Mete*. Biosains. <http://digilib.brawijaya.ac.id>(Diakses tanggal 3 Oktober 2016)
- Jauhari, Lendra Tantowi. 2010. Seleksi dan Identifikasi Kapang Endofit Penghasil Antimikroba Penghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen. *Skripsi*. Jakarta:Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Jayanthi *et al.* 2011. Antimicrobial and Antioxidant Activity of The Endophytic Fungus *Phomopsis sp.* GJJM07 isolated from *Mesua ferrea*. *Research article*. Vol 1. Hal 85-90.
- Joe king. 2013. Fitness and nutrition article. <http://www.livestrong.com>(diakses tanggal 3 Oktober 2016).
- 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*. 68 (6):2117-2122.
- Kanti, A. dan Muhammad, I. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Kapang pada Relung Rhizosphere Tanaman Di Kawasan Cagar Alam Gunung Mutis, Timor, NTT*. Bidang Zoologi. Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Kevin, M Folta. 2009. Genetics and Genomics of Rosaceae. New USA: Springer Science and Bussines Media, LLC Small Fruit Crop Management. 1990. G. J. Galletta and D. G. Himelrick (eds.), 602 pages. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. (800) 223-1360.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kimball, J.W.2002. *Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Erlangga.
- Kumalaningsih, S. 2007. Antioksidan, Sumber & Manfaatnya.<http://antioxidantcentre.com>(Diakses tanggal 01 Maret 2016).
- Kurnia, Agus .2000.*Petunjuk Praktis Budi Daya Stroberi*.Depok: AgromediaPustaka.
- Kurnia, Agus. 2005. *Bertanam Strowberry*. Gramedia. Jakarta.

- Lailiyah, Ahwanul. 2014. Kapasitas Antioksidan Daun dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* dari Pantai Sumenep Madura. *Jurnal Alchemy*. Vol 3 No 1.
- Lauro, G.J. 2000. *Natural Food Colours, Science and Technology*. IFT BasicSymposium Series.
- Leong L.P., Shui, G., 2001. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. *Food Chemistry*. Vol 7 No 6 : 69-75.
- Lobo, V, et al. 2010. *Free Radical, Antioxidants and Functional Foods: Impact On Human Health*. Pharmacology Review. Vol 4 No 8: 118-126.
- Mahrn, Jamaludin. 2006. ALqur'an Bertutur Tentang Makanan dan Obat-Obatan. Yogyakarta : Mitra Pustaka.
- Mailandari, M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia kydia* Roxb. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang aktif. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Indonesia.
- Martino. 2009. Two Ellagitannin from The Leaves of *Terminalia triflora* with Inhibitory Activity in HIV-1 Reverse Transcriptase. *Phytotherapy Research Journal* Vol 18 : 667-669.
- Melliawati, Ruth , Widyaningrum, D.N., Djohan, A.C., Sukiman, H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas*. Vol. 7, No. 3, Hal. 221-224.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.
- Mullen, W., J. McGinn, M.E. Lean, M.R. MacLean, P. Gardner, G.G. Duthie, T. Yokota, A. Crozier. 2002. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Agricultural Food Chemistry*. 50 (18): 5191–5206.
- Murthy, Nitya K, Pusphalatha, and Chandrahekhar..2011. Antioxidant Activity And Phytochemical Analysis Of Endophytic Fungiisolated From *Lobelia Nicotianifolia*. *J. Chem. Pharm. Res.*, Vol 3(5):218-225.
- Nidjvedt RJ, Van Nood, Van Hoorn, Boelens, Nooren, and Van Leeuwen. 2001. Flavonoid: a review a probable mechanisms of action and potential applications. *American Journals Clinical Nutrition*. USA. 74:418-25.

- Nimah S. W. 2012. Uji Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal perikanan*. Vol 1 no 2.
- Nixon. 2003. Medical References. <http://www.ellagic.net/ellagic-acid-medicalreferences.html> (Diakses tanggal 01 Maret 2016).
- Noguchi, A., Inohara-Ochiai, M., Ishibashi, N., Fukami, H., Nakayama, T., Nakao, M. (2008). A novel glucosylation enzyme: molecular cloning, expression, and characterization of *Trichoderma viride* JCM22452 α -amylase and enzymatic synthesis of some flavonoid monoglucosides and oligoglucosides. *J. Agric. Food Chem.* 56: 12016-12024.
- Noverita, Fitria D, dan Sinaga E. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang (*Zingiber ottensii* Val.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 4, No. 4, Hal. 171 -176.
- Nursulistyarini, Fenni. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi*. Yogyakarta: Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
- Nutan. 2013. Ellagic acid and Gallic acid from *Lagostremia speciosa* L. Inhibit HIV-1 Infection through Inhibition of HIV-1 Protease and Reverse Transcriptase Activity. *Indian J Med Research*. Hal 540-548.
- Okawa, M. J. Kinjo, T. Nohara and M. Ono. 2001. DPPH (1,1- Diphenyl-2 Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoid btained from Some Medical Plants. *Biok Pharm Bull*. Vol 24 No 10.
- Pawle, G dan Singh. 2014. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical analysis of an endophytic species of *Nigrospora* isolated from living fossil *Ginkgo biloba*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* . Vol 4 No 1 Hal 1–9.
- Pelczar, MJ dan E. C. S Chan. 1988. *Mikrobiologi*. Penerjemah Hadi Oetomo, R. S, dan Tjitrosomo, S. L. Jakarta: UI Jakarta.
- Pertiwi, Mentari FD dan Wahono Hadi Susanto. 2014. Pengaruh Proporsi (Buah:Sukrosa) Dan Lama Osmosis Terhadap Kualitas Sari Buah Stroberi (*Fragaria Vesca* L). *Jurnal pangan dan Agroindutri*. Vol 2 No 2. Hal 82-90.
- Percival, Mark. 1998. *Antioxidant*. Articiel Clinical Nutrition Insights.

- Petrini, O., T.N. Sieber, L. Toti, dan O.Viret.1992. Ecology Metabolite Production and Utilization in Endophytic Fungi. *Swiss Natur's Toxins*. 78:196.
- Pietta P-G., 1999. Flavonoids as Antioxidants, Reviews, *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.
- Prakash, A., 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. Vol. 19, No.2.
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Erlangga.
- Pratiwi,D.,S.Wahdaningsih, dan Isnidar. 2013. The Test of Antioxidant Activity from Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine Americana* Merr) . Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Traditional Medicine Journal*.18 (1): 9-16.
- Pratiwi, B.E. 2015. Isolasi dan Skrining Fitokimia fungi Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) Sebagai Antibakteri . *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- Qayyim Al Jauziyah, Ibnu. 1994. Sistem Kedokteran Nabi: Kesehatan dan Pengobatan Menurut Petunjuk Nabi Muhammad SAW. Diterjemahkan oleh Dr. H. Said Agil Husin Al-Munawwar. Semarang: PT. Karya Toha Putra.
- Rachman, A., 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. IPB – Press, Bogor.
- Radji, M, Atiek S, Renita D. 2011. Isolation of Fungal Endophytes from *Garcinia Mangostana* and Their Antibacterial Activity. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10. No. 1. Page: 104.
- Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal.*Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 2. No.3. Hal: 113-126.
- Rahayuningsih, Nur. 2015. Efek antihiperlipidemia ekstrak etanol buah strawberry pada tikus putih dari daerah bandung. *Jurnal kesehatan bakti tunas husada*. Vol 13 No 1.
- Rante, H., Burhanuddin, T., dan Soendaria, I. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annum* L var. *chinensis*) Dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 17. No. 2. Makassar: Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

- Rifai, M.A. 1969. A revision of the Genus *Trichoderma*. *Mycological papers*. P. 116 :1-56.
- Rohmayati, Maya. 2013. Budidaya Stroberi di Lahan Sempit. Bandung: Infra Pustaka Santi. 2008. Budidaya Stroberi di Purbalingga, Jateng. <http://tabloidgallery.wordpress.com>(Diakses tanggal 01 Maret 2016).
- Rukmana, H. Rahmat. 1998. *Stroberi, Budidaya dan Pasca Panen*. Yogyakarta : Kanisius.
- Sandhiutami. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Rebusan Daun Sambang Getih (*Hemigraphis bicolor Boerl*) dan Sambang Solok (*Aerva Sanguinolenta*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Fakultas Farmasi*. Hal 3.
- Saraswati, Desi. 2005. *Berkebun Stroberi Secara Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sastrohamidjojo, H, 2001, *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Schuler, P. 1990. *Natural Antioxidant Exploited Commercially: Food Antioxidants*. Husdont BJB, editor. New York: Elsevier Applied Science.
- Seeram, N. P., Lee, R., Scheuller, H. S., and Heber, D., 2006, Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem.*, 97: 1-11.
- Septiawan, Ayu. 2014. Potensi Antioksidan Filtrat dan Biomassa Hasil Fermentasi Kapang Endofit *Colleotricum* sp. Dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd). *Skripsi*. Jakarta: Uin Syarif Hidayatullah.
- Sevian, Atika Nourmela. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) dan Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill) dengan Peredaman Radikal Bebas ABTS. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Shanmugapriya, 2012. Antioxidant and Radical Scavenging Effect of Blue-Green Alga *Spirulina Platensis*. *InternationalJurnal of Pharmaceutical and Biological Archives*. Vol 3 Noo 5 Hal 1086-1090.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shin, Y., Ryu, J. A., Liu, R. H., Nock, J. F. and Watkins, C. B. 2008. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality

antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *J. Postharvest Biology and Technology*. 49:201-209.

- Srikandace, Yoice, Yatri Hapsari dan Partomuan Simanjuntak. 2007. Seleksi Mikroba Endofit *Curcuma zedoaria* dalam Memproduksi Senyawa Kimia Antimikroba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5, No. 2. Hal: 77-84. ISSN: 1693-1831.
- Streets, R.B. 1980. Diagnosis Penyakit Tanaman. The University of Arizona Press. Tuskon- Arizona, USA. (Alih bahasa: Imam Santoso).
- Strobel G., B. Daisy, U. Castillo and J. Harper. 2004. Natural Products From Endophytic Microorganisms. *Journal of Natural Products*. Vol. 67, Hal. 257-268.
- Strobel, G. dan Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 67, No.4, Hal. 491-502.
- Sunarni, 2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechorapus burahol*). *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol 18 No 3.
- Sunarmi, Ninik. 2010. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Akar Tanaman Kentang Sebagai Anti Jamur (*Fusarium* sp, *Phytophthora infestans*) dan Anti Bakteri (*Ralstonia solanacaerum*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sutejo, Adi M. 2008. Identifikasi Morfologi Beberapa Spesies Jamur *Fusarium*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. Vol 14 No 1.
- Svarcova, Irena. 2007. Berry fruit as a source of biologically active compounds: the case of *Lonicera caerulea*. *Biomed Pop Med*. Vol 151 No 2.
- Talwar GP, Dar SA, Rai MK, Reddy KV, Mitra D, Kulkarni SV, *et al*. A novel polyherbal microbicide with inhibitory effect on bacterial, fungal and viral genital pathogens. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32 : 180-5.
- Tan, R.X dan Zou, W.X. 2001. *Endophyte : A Rich Source Of Function Metabolites*. Institute of Functional Biomolecule, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing.
- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *J. Food Chemistry*. 107 :282-288.

- Tirtana, Z.Y.G., Liliek S., dan Abdul C. 2013 Eksplorasi Jamur Endofit pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) serta Potensi Antagonismenya terhadap *Phytophthora infestans* (Mont.) de Barry Penyebab Penyakit Hawar Daun Secara *In Vitro*. *Jurnal HPT*. Vol. 1. No. 3.
- Tjitrosoepomo, G. 1992. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Trilaksani, W. 2003. *Antioxidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. <http://fa.lib.itb.ac.id>(Diakses tanggal 1 oktober 2016).
- Widowati Tiwit, Bustanussalam, Sukiman Harmastini, dan Simanjuntak Partomuan. 2016. Isolasi Dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Kunyit (*Curcuma Longa* L.) Sebagai Penghasil Antioksidan. *Biopropal Industri*. Vol. 7 No.1.
- Widyastuti, S.M., Sumardi dan N. Hidayat, 1998. Kemampuan *Trichoderma* spp. untuk pengendalian hayati jamur akar putih pada *Acacia mangium* secara *in vitro*. *Buletin Kehutanan* 36 : 24-36.
- Wijaya, J. 2012. *Potensi Ekstrak Metanol Daun Kapur (Harmsiponax aculeatus) sebagai Obat Antimalaria*. Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pattimura.
- Winarsih, S. 2011. *Reproduksi dan Pertumbuhan Mikroorganisme*. Palangkaraya: Program Studi Pendidikan Biologi Pascasarjana: Universitas Palangkaraya. hal. 36-41.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius.
- Worang, R.L. 2003. *Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains (PPS702)* Bogor: Program Pascasarjana/S3 Institut Pertanian Bogor.
- Ya Luo, Tang Haoru, Wang Xio Rong, Zang Yong, dan Liu Ze Jing. 2011. Antioxidant Properties And Involved Antioxidant Compounds Of Strawberry Fruit At Different Maturity Stages. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. Vol 19 No 1.
- Yosmar Rahmi, Suharti Netty, dan Rasyid Roslinda. 2013. Isolasi dan Uji Kualitatif Hidrosilat Jamur Penghasil Enzim Selulase dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu. *Jurnal Farmasi Andalas*. Vol 1 No 1.
- Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. Vol 11 No 2.

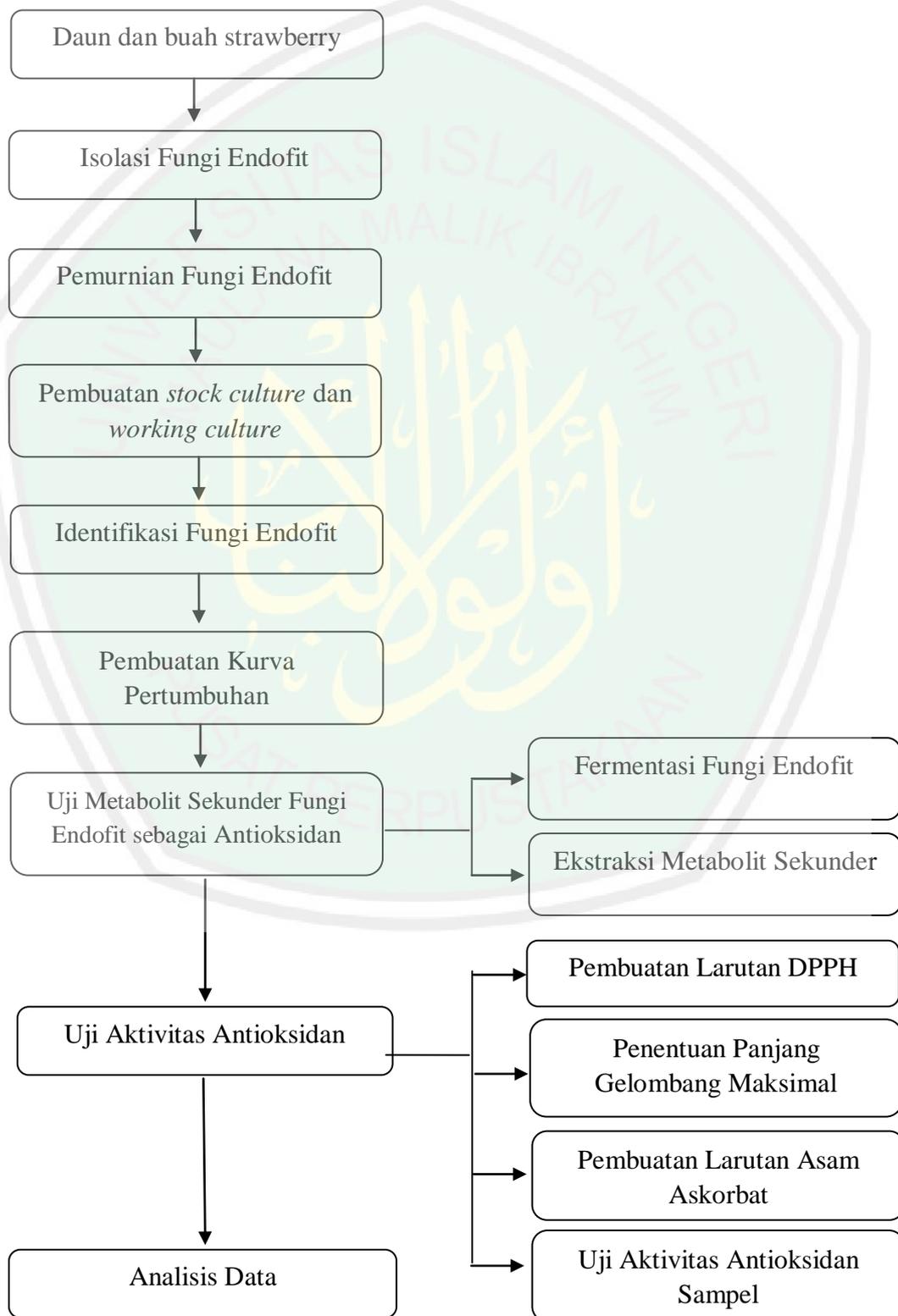
Yuri. 2011. Fun With Microbiology: Mucor spesies. <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.co.id/2011/04/mucor-species.html>(diakses pada tanggal 1 Oktober 2016).

Yuswantina, R. 2011. *The Experiment Antioxidant Activity of Aleurite moluccana (l.) Willd Leaves Extract by DPPH Method*. Pp.06.



LAMPIRAN

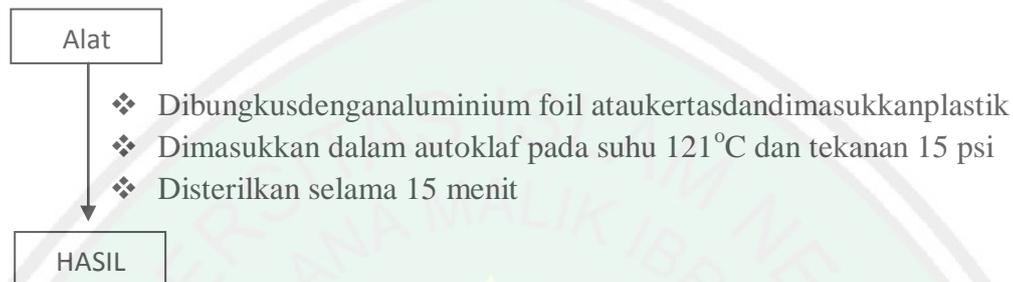
Lampiran 1. Alur Penelitian



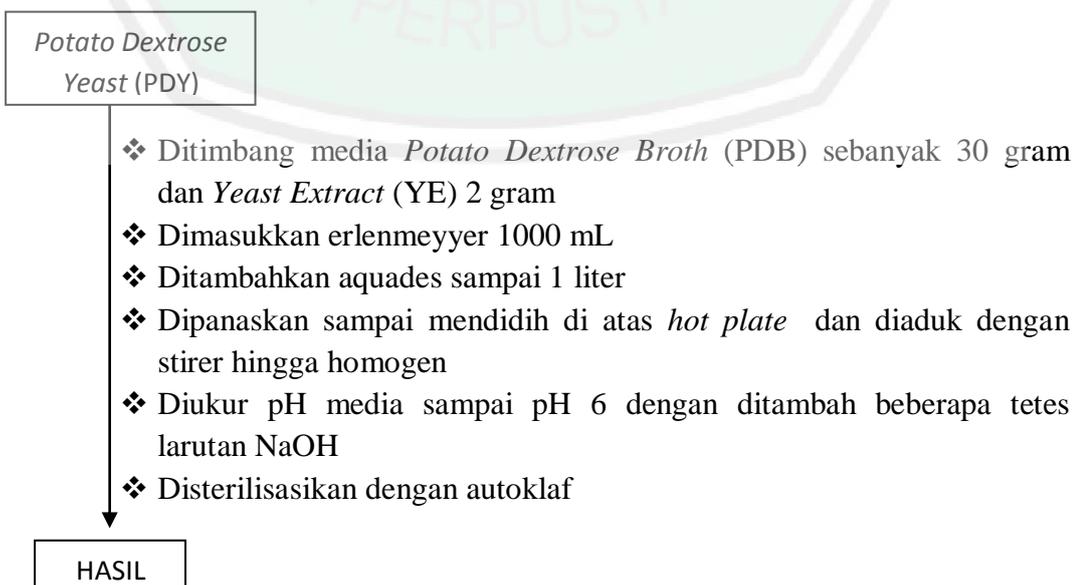
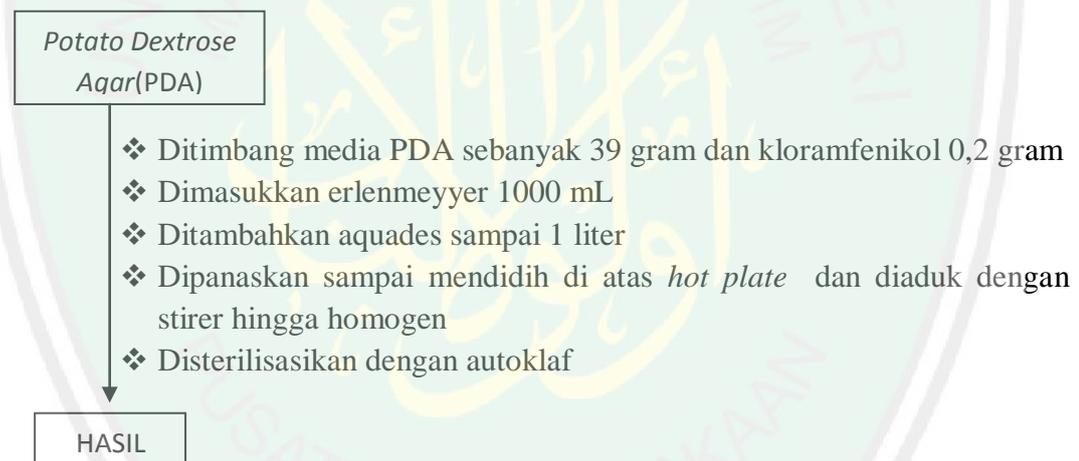
Lampiran 2. Langkah Kerja

L. 2.1 Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Buah dan Daun Strawberry

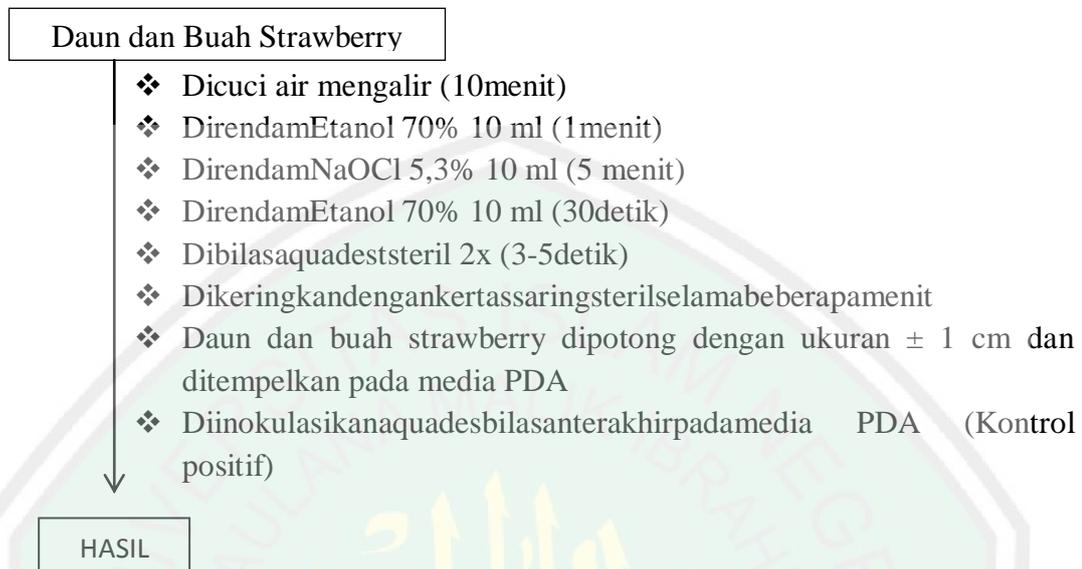
L.2.1.1 Sterilisasi Alat



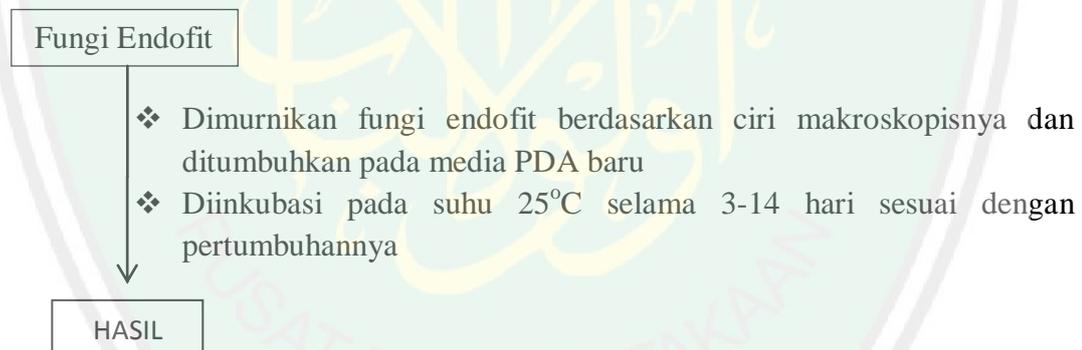
L.2.1.2 Pembuatan Media



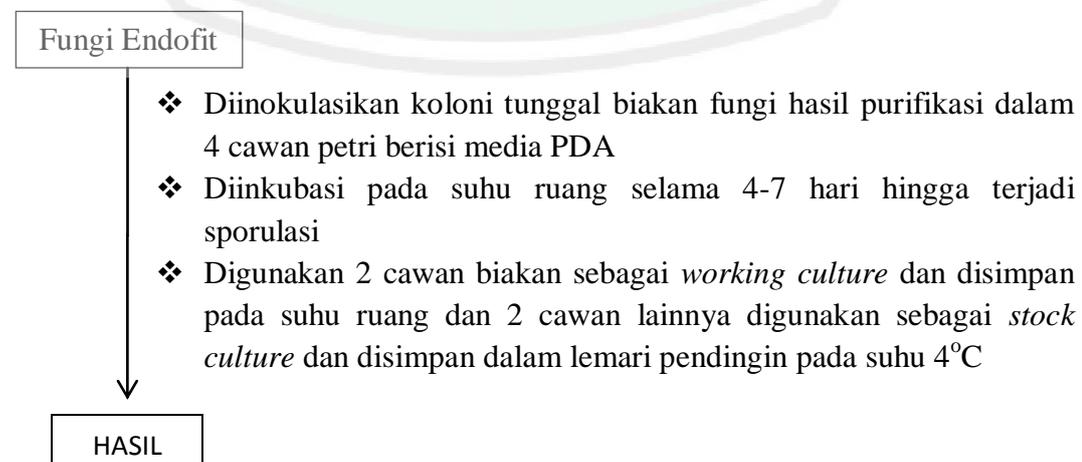
L.2.1.3 Isolasi Fungi Endofit dari Daun dan Buah Strawberry



L.2.1.4 Pemurnian Fungi Endofit

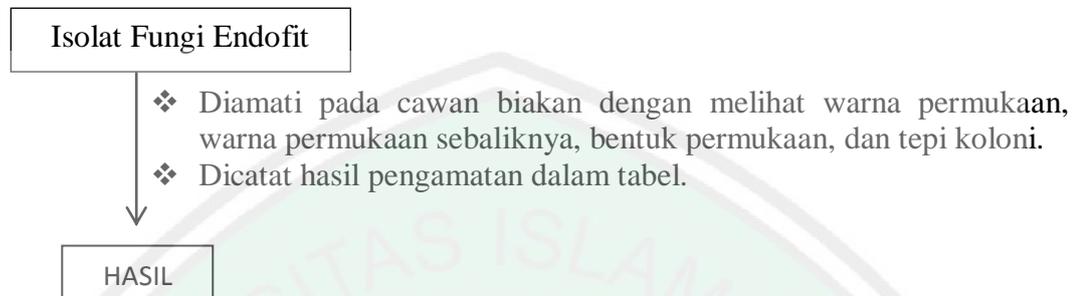


L.2.1.5 Pembuatan *Stock Culture* dan *Working Culture*

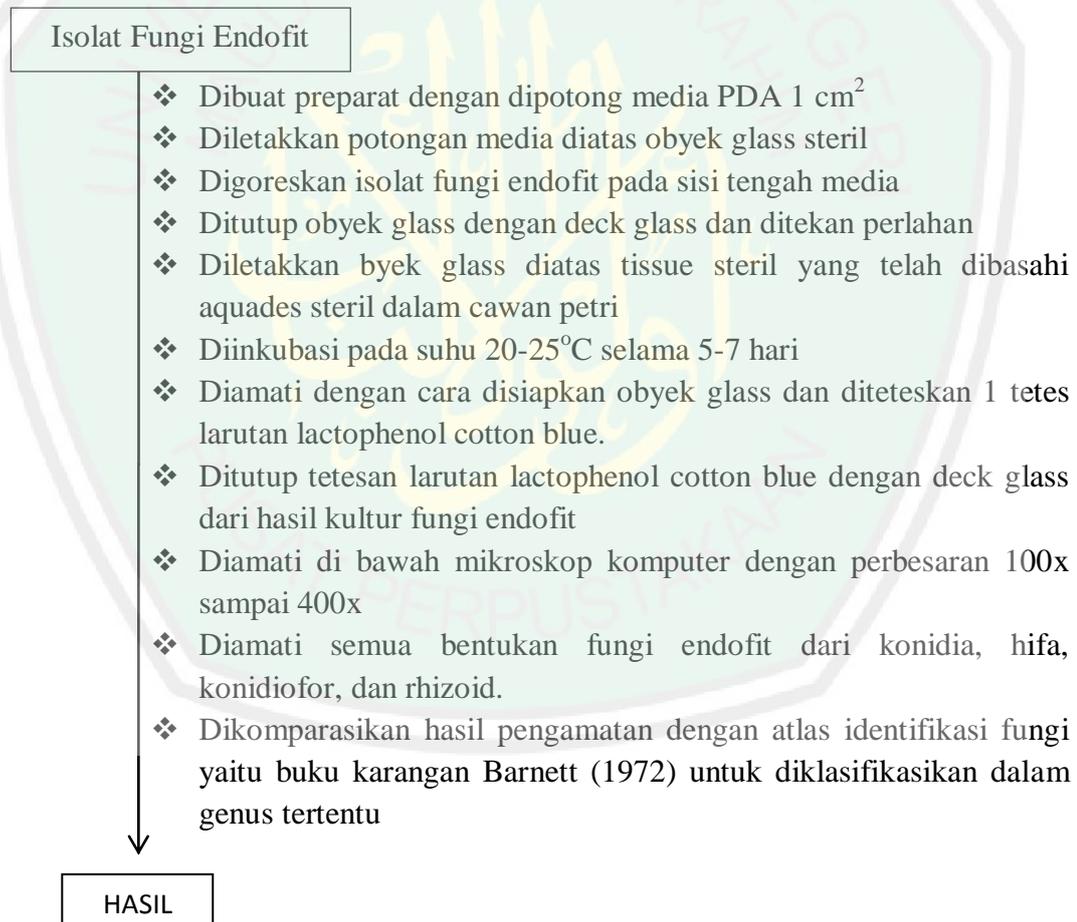


L.2.1.6 Identifikasi Isolat Fungi Endofit

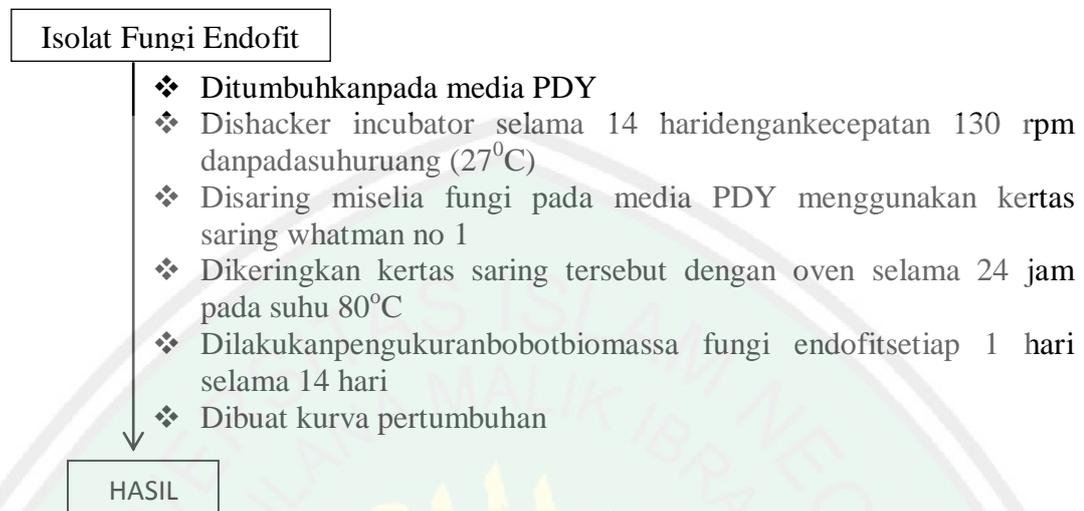
a. Identifikasi Makroskopis



b. Identifikasi Mikroskopis

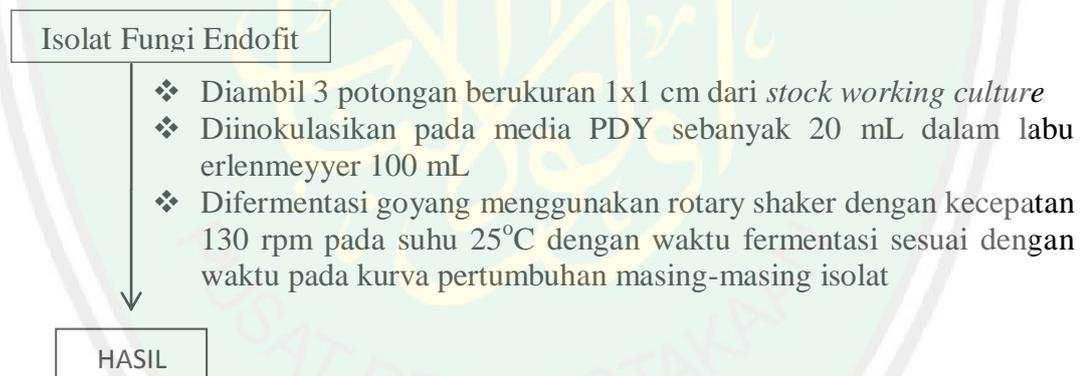


L. 2.1.7 Pembuatan Kurva Pertumbuhan

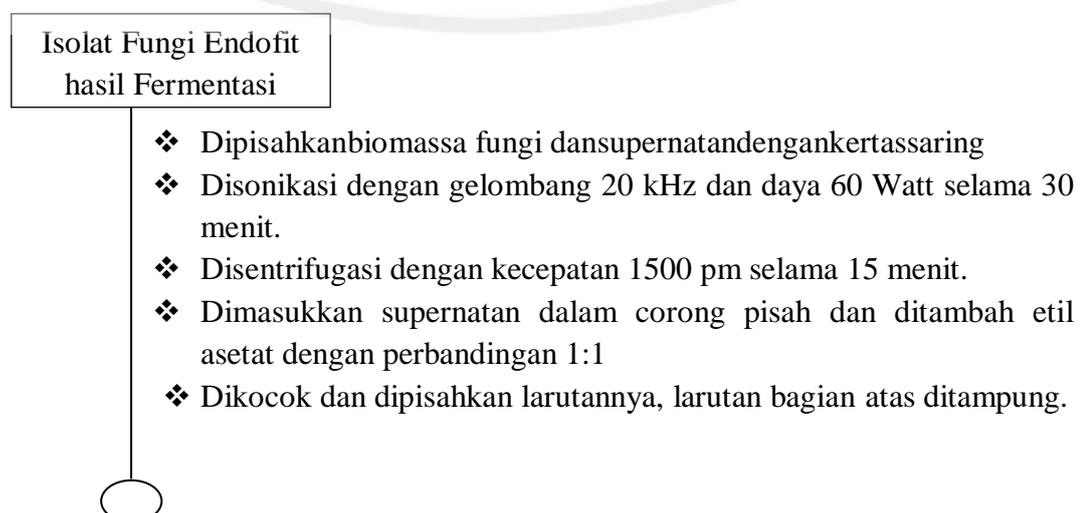


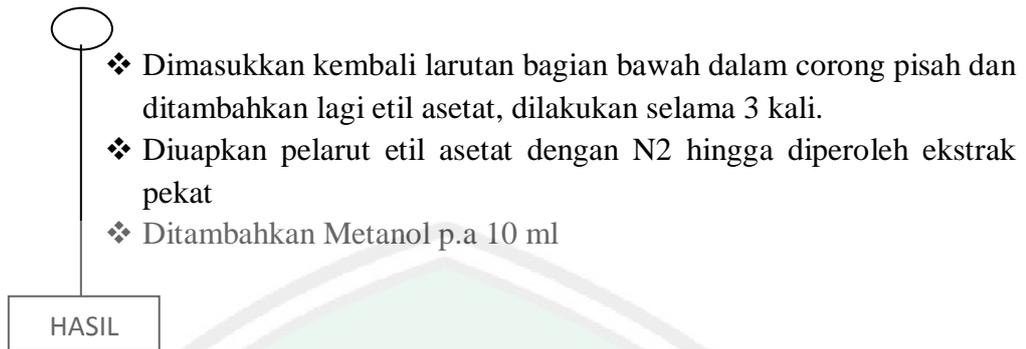
L.2.2 Uji Fungi Endofit Penghasil Metabolit Antioksidan

L.2.2.1 Fermentasi Fungi Endofit



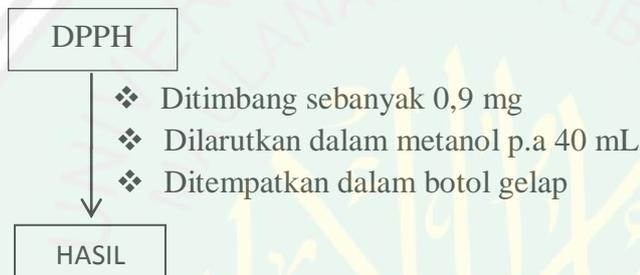
L. 2.2.2 Ekstraksi Metabolit Sekunder



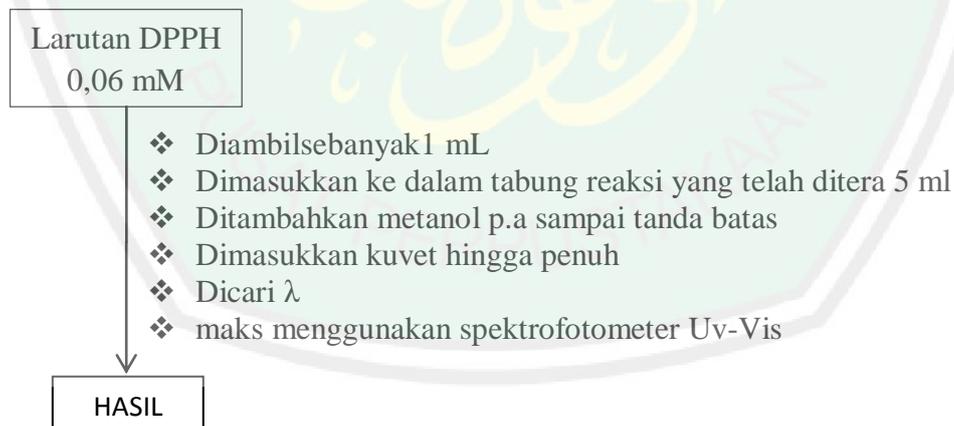


L.2.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan

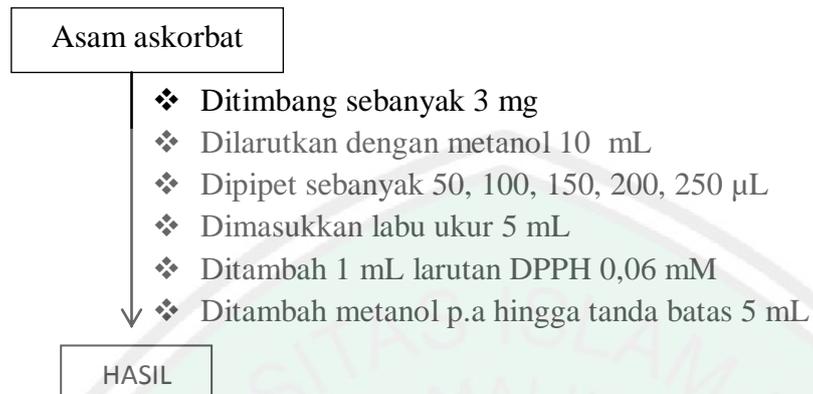
L.2.3.1 Pembuatan Larutan DPPH



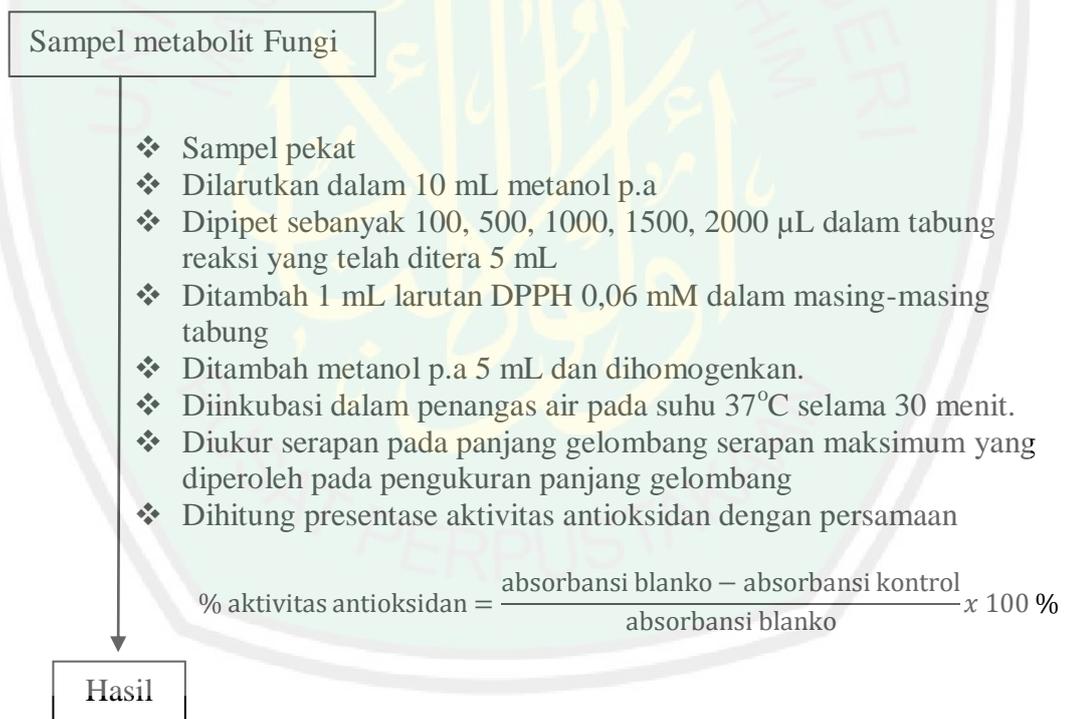
L.2.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal



L.2.3.3 Pembuatan Larutan Asam Askorbat

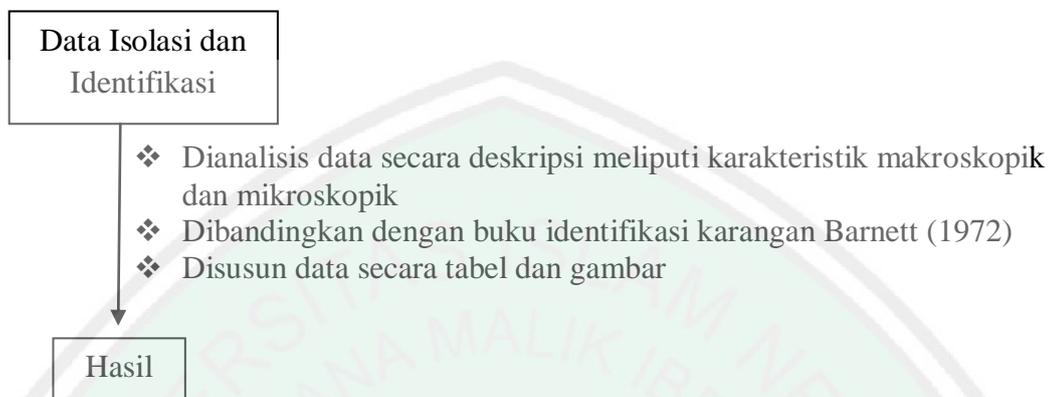


L.2.3.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel

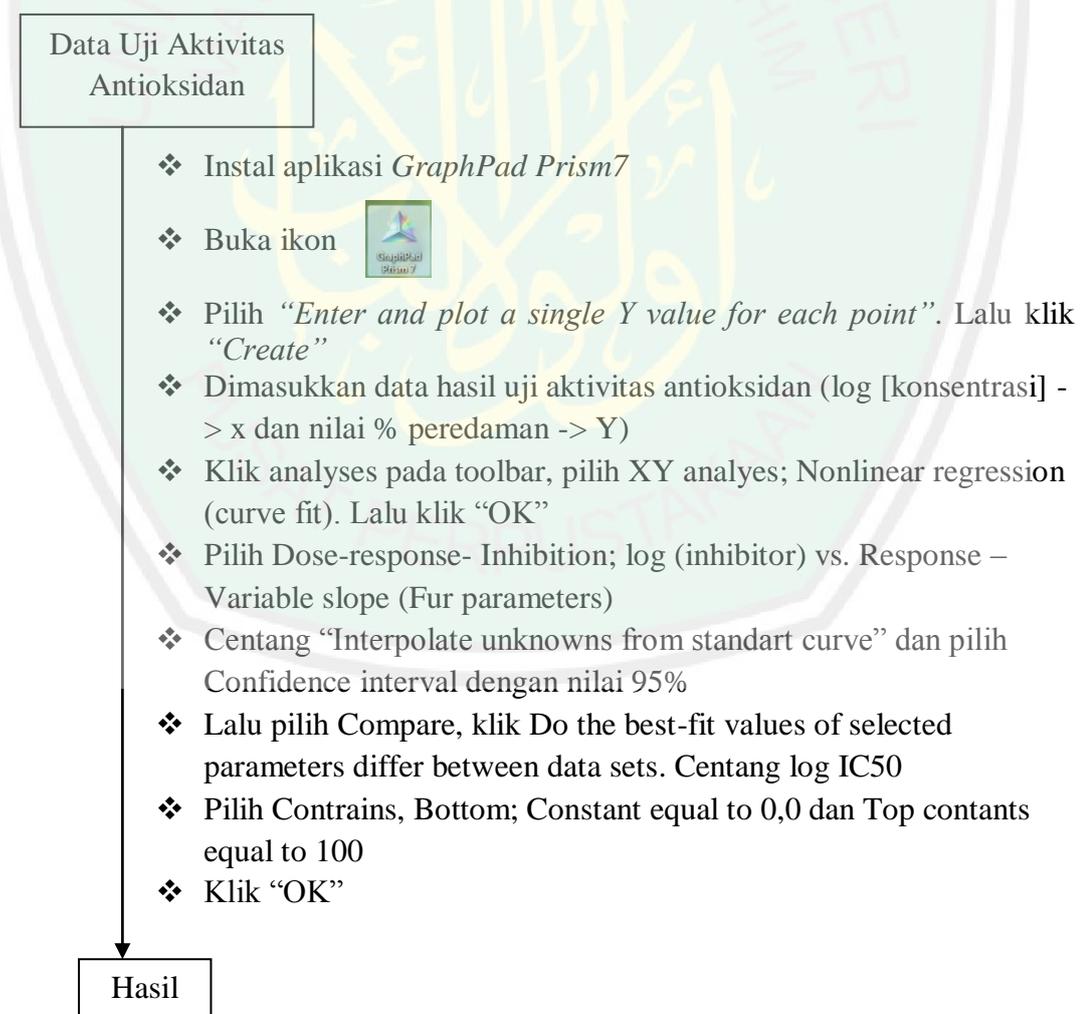


L.2.4 Analisis Data

L.2.4.1 Analisis Data Isolasi dan Identifikasi



L. 2.4.2 Analisis Data Uji Aktivitas Antioksidan dengan *GraphPad Prism5*



Lampiran 3. Komposisi media yang digunakan dalam penelitian

1. Media Potato Dextrose Yeast (PDY)

❖ Kentang	500 gram
❖ Glukosa/Sukrosa	10 gram
❖ Yeast Extract	1 gram
❖ Aquadest	500 ml

2. Media Potato Dextrose Agar (PDA)

❖ Kentang	500 gram
❖ Dextrose	8 gram
❖ Aquades	500 ml



Lampiran 4. Perhitungan

L.4.1 Cara Pembuatan Larutan DPPH 0,06 mM

$$\begin{aligned} \text{Volume Larutan} &= 40 \text{ mL} \\ \text{BM DPPH} &= 394,32 \text{ g/mol} \\ \text{Mol DPPH} &= \text{Volume} \times \text{Konsentrasi} \\ &= 40 \text{ mL} \times 0,06 \text{ mM} \\ &= 0,04 \text{ L} \times 0,00006 \text{ M} \\ &= 0,0000024 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa DPPH} &= \text{mol} \times \text{BM} \\ &= 0,0000024 \text{ mol} \times 394,32 \text{ g/mol} \\ &= 0,000946368 \text{ g} \\ &= 0,9 \text{ mg} \end{aligned}$$

Diambil 0,9 mg DPPH, dilarutkan dengan 40 ml metanol p.a. larutan ini adalah larutan stok.

L.4.2 Pembuatan Stok Larutan Sampel 500 ppm

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

L.4.3 Pengenceran Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit

➤ Pembuatan Sampel 200 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

V1 = Volume yang diambil untuk pengenceran

V2 = Volume larutan yang diinginkan

M1 = Konsentrasi larutan stok

M2 = Konsentrasi larutan hasil pengenceran

$$V1 = \frac{5 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel 200 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 150 ppm**

$$V1 = \frac{5 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel 150 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 1,5 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 100 ppm**

$$V1 = \frac{5 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 50 ppm**

$$V1 = \frac{5 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 10 ppm**

$$V1 = \frac{5 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan sampel 10 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

L.4.4 Pembuatan stok larutan asam askorbat 300 ppm.

300 ppm ekstrak = 300mg/L

$$= 300 \text{ mg} / 1000 \text{ mL}$$

$$= 3 \text{ mg} / 10 \text{ mL}$$

L.4.5 Pengenceran Asam Askorbat

➤ **Pembuatan Sampel 3 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 3 \text{ ppm}}{300 \text{ ppm}} = 0,05 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam askorbat 3 ppm diperlukan larutan stok 300 ppm sebanyak 0,05 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 6 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}}{300 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam askorbat 6 ppm diperlukan larutan stok 300 ppm sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 9 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 9 \text{ ppm}}{300 \text{ ppm}} = 0,15 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam askorbat 9 ppm diperlukan larutan stok 300 ppm sebanyak 0,15 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 12 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 12 \text{ ppm}}{300 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam askorbat 12 ppm diperlukan larutan stok 300 ppm sebanyak 0,2 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

➤ **Pembuatan Sampel 15 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 15 \text{ ppm}}{300 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 5 mL larutan asam askorbat 15 ppm diperlukan larutan stok 300 ppm sebanyak 0,25 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

Lampiran 5. Data Hasil Penelitian

L.5.1 Data hasil sampel setelah dilakukan fermentasi

			
FB1 (<i>Trichoderma</i> sp.)	FB2 (<i>Fusarium</i> sp.)	FD1 (<i>Mucor</i> sp.)	FD2 (<i>Mucor</i> sp.)

L.5.2 Data hasil perubahan warna sampel

a. Sampel dari Ekstrak Fungi Endofit

Sampel/ Konsentrasi	Kontrol	10ppm	50ppm	100ppm	150ppm	200ppm
FB 1	+	+++	+++	+++	+++	+++
FB 2	+	++	+++	+++	+++	+++
FD 1	+	++	++	++	++	++
FD 2	+	++	++	++	++	++

b. Sampel dari Asam Askorbat

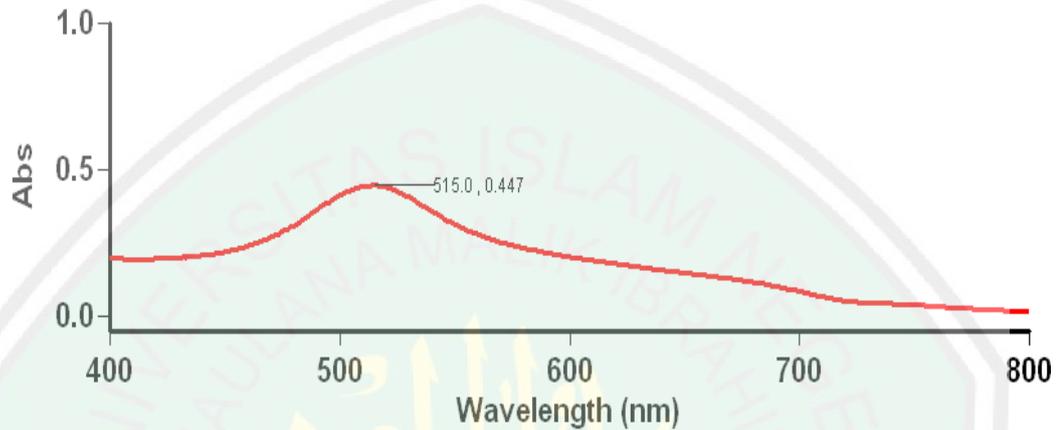
Sampel	Kontrol	3ppm	6ppm	9ppm	12ppm	15ppm
Asam askorbat	+	+++	+++	+++	+++	+++

Keterangan : tanda + : warna ungu
 tanda ++ : warna ungu pudar
 tanda +++ : warna kuning

L.5.3 Data hasil pengukuran panjang gelombang dengan Uv-vis

Lamdha Maks DPPH

Tanggal Analisa : 09 Agustus 2016



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 09 Aug 01:34:54 PM 2016

Method:

Batch: D:\Layanan Analisa\Emilia Rahmawati-Bio\Lamdha Maks DPPH (09-08-2016).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: DPPH

Collection Time 8/9/2016 1:35:29 PM

Peak Table

Peak Style

Peaks

Peak Threshold

0.0100

Range

800.0nm to 400.1nm

Wavelength (nm)	Abs
-----------------	-----

515.0	0.447
-------	-------

L.5.4 Data Hasil Absorbansi Sampel menggunakan Uv-Vis

a. Data absorbansi sampel FB1 (*Trichoderma* sp.)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi kontrol)			Rerata	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata
	1	2	3		1	2	3	
10	0,1388	0,1250	0,1027	0,1221	0,1112	0,0928	0,0882	0,0974
50	0,1355	0,1249	0,1023	0,1209	0,1041	0,0555	0,0683	0,0759
100	0,1351	0,1247	0,1016	0,1204	0,0894	0,0096	0,0586	0,0525
150	0,1350	0,1246	0,1013	0,1203	0,0558	0,0032	0,0572	0,0387
200	0,1329	0,1241	0,1006	0,1192	0,0420	0,0022	0,0317	0,0253

b. Data absorbansi sampel FB2 (*Fusarium* sp.)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi kontrol)			Rerata	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata
	1	2	3		1	2	3	
10	0,1524	0,1399	0,1270	0,1397	0,1479	0,1209	0,1149	0,1279
50	0,1524	0,1390	0,1258	0,1390	0,1241	0,0651	0,0478	0,0790
100	0,1519	0,1376	0,1249	0,1381	0,0982	0,0578	0,0451	0,0670
150	0,1515	0,1369	0,1247	0,1377	0,0835	0,0399	0,0380	0,0538
200	0,1509	0,1358	0,1211	0,1359	0,0760	0,0365	0,0343	0,0489

c. Data absorbansi sampel FD1 (*Mucor* sp.)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi kontrol)			Rerata	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata
	1	2	3		1	2	3	
10	0,1360	0,1027	0,1014	0,1133	0,1130	0,0882	0,0746	0,0919
50	0,1359	0,1023	0,1003	0,1128	0,1016	0,0683	0,0626	0,0775
100	0,1362	0,1016	0,1000	0,1126	0,0859	0,0586	0,0609	0,0684
150	0,1356	0,1013	0,0998	0,1122	0,0785	0,0572	0,0459	0,0605
200	0,1355	0,1006	0,0995	0,1118	0,0712	0,0317	0,0328	0,0452

d. Data absorbansi sampel FD2 (*Mucor* sp.)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi kontrol)			Rerata	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata
	1	2	3		1	2	3	
10	0,1371	0,1023	0,1349	0,1248	0,1108	0,0968	0,1174	0,1107
50	0,1351	0,1020	0,1348	0,1240	0,1075	0,0899	0,1051	0,1008
100	0,1349	0,1014	0,1347	0,1236	0,0941	0,0811	0,0974	0,0898
150	0,1347	0,1012	0,1347	0,1235	0,0646	0,0645	0,0889	0,0726
200	0,1345	0,1008	0,1342	0,1231	0,0485	0,0367	0,0766	0,0542

e. Data absorbansi sampel asam askorbat

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi kontrol)			Rerata	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata
	1	2	3		1	2	3	
3	0,1062	0,1289	0,1437	0,1274	0,0386	0,0272	0,0172	0,0276
6	0,1050	0,1265	0,1462	0,1259	0,0233	0,0262	0,0125	0,0206
9	0,1041	0,1255	0,1439	0,1243	0,0223	0,0259	0,0116	0,0199
12	0,1037	0,1253	0,1438	0,1242	0,0140	0,0148	0,0111	0,0133
15	0,1032	0,1246	0,1428	0,1235	0,0144	0,0138	0,0106	0,0129

5.5 Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan.

a. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan FB1 (*Trichoderma sp*)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log (konsentrasi)	Absorbansi kontrol	% Aktivitas antioksidan
	1	2	3				
10	0,1112	0,0928	0,0882	0,0974	1	0,1221	20,22
50	0,1041	0,0555	0,0683	0,0759	1,69	0,1209	37,22
100	0,0894	0,0096	0,0586	0,0525	2,00	0,1204	56,39
150	0,0558	0,0032	0,0572	0,0387	2,17	0,1203	67,83
200	0,0420	0,0022	0,0317	0,0253	2,30	0,1192	78,77

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh pada konsentrasi 10 ppm:

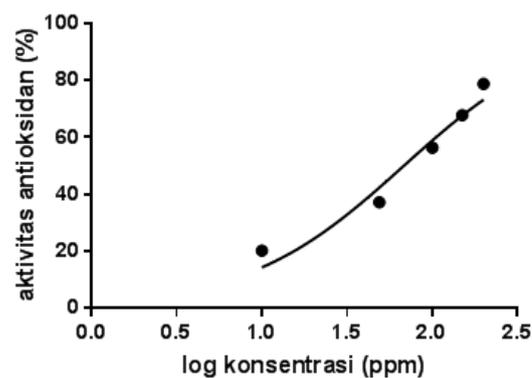
$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{0,1221 - 0,0974}{0,1221} \times 100\% \\ &= 20,22\% \end{aligned}$$

Nilai IC50 dihitung menggunakan software “Graphad Prism7” dengan konsentrasi 10-200 ppm, sehingga diperoleh hasil:

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	
LogIC50 different for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogIC50	1,833
HillSlope	0,9333
IC50	68,09
Span	= 100
Std. Error	
LogIC50	0,05962

HillSlope	0,1577	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	1,599 to 2,011	
HillSlope	0,4965 to 1,726	
IC50	39,75 to 102,5	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0,9555	
Absolute Sum of Squares	98,51	
Sy.x	5,73	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogIC50	1,833	1,833
HillSlope	0,9333	
IC50	68,09	68,09
Span	= 100	
Std. Error		
LogIC50	0,05962	0,05962
HillSlope	0,1577	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	1,599 to 2,011	1,599 to 2,011
HillSlope	0,4965 to 1,726	
IC50	39,75 to 102,5	39,75 to 102,5
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9555	0,9555
Absolute Sum of Squares	98,51	98,51
Sy.x		5,73
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	

Grafik IC50 Isolat FB1 (*Trichoderma* sp.)



b. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan FB2 (*Fusarium* sp)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log (konsentrasi)	Absorbansi kontrol	% Aktivitas antioksidan
	1	2	3				
10	0,1479	0,1209	0,1149	0,1279	1	0,1397	8,44
50	0,1241	0,0651	0,0478	0,0790	1,69	0,1390	43,16
100	0,0982	0,0578	0,0451	0,0670	2,00	0,1381	51,48
150	0,0835	0,0399	0,0380	0,0538	2,17	0,1377	60,92
200	0,0760	0,0365	0,0343	0,0489	2,30	0,1359	64,01

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh pada konsentrasi 10 ppm:

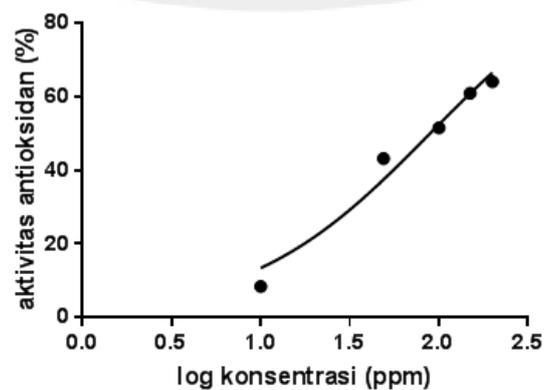
$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{0,1397 - 0,1279}{0,1397} \times 100\% \\ &= 8,44 \% \end{aligned}$$

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan software "Graphad prism7" sehingga diperoleh hasil:

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	
LogIC50 different for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogIC50	1,951
HillSlope	0,8513
IC50	89,4
Span	= 100
Std. Error	
LogIC50	0,04865
HillSlope	0,1274
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	1,788 to 2,116
HillSlope	0,5195 to 1,308
IC50	61,36 to 130,7

Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9678	
Absolute Sum of Squares	64,26	
Sy.x	4,628	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogIC50	1,951	1,951
HillSlope	0,8513	
IC50	89,4	89,4
Span	= 100	
Std. Error		
LogIC50	0,04865	0,04865
HillSlope	0,1274	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	1,788 to 2,116	1,788 to 2,116
HillSlope	0,5195 to 1,308	
IC50	61,36 to 130,7	61,36 to 130,7
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9678	0,9678
Absolute Sum of Squares	64,26	64,26
Sy.x		4,628
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
# of X values		5
# Y values analyzed		5

Grafik IC50 Isolat FB2 (*Fusarium* sp.)



c. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan FD1 (*Mucor sp.*)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log (konsentrasi)	Absorbansi kontrol	% Aktivitas antioksidan
	1	2	3				
10	0,1130	0,0882	0,0746	0,0919	1	0,1133	18,88
50	0,1016	0,0683	0,0626	0,0775	1,69	0,1128	31,29
100	0,0859	0,0586	0,0609	0,0684	2,00	0,1126	39,25
150	0,0785	0,0572	0,0459	0,0605	2,17	0,1122	46,07
200	0,0712	0,0317	0,0328	0,0452	2,30	0,1118	59,57

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh pada konsentrasi 10 ppm:

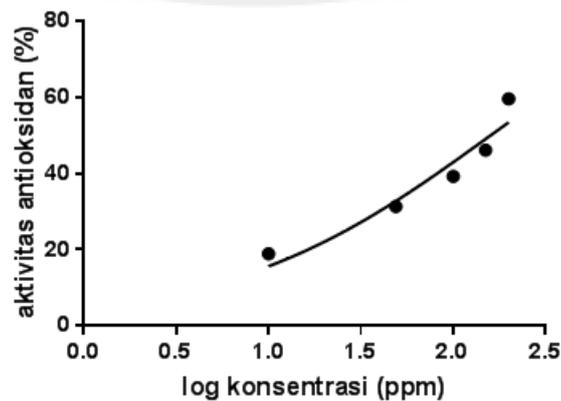
$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{0,1133 - 0,0919}{0,1133} \times 100\% \\ &= 18,99\% \end{aligned}$$

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan software “Graphad prism7” sehingga diperoleh hasil:

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	
LogIC50 different for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogIC50	2,203
HillSlope	0,6087
IC50	159,7
Span	= 100
Std. Error	
LogIC50	0,08289
HillSlope	0,1245
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	1,983 to 2,697
HillSlope	0,2559 to 1,165

IC50	96,13 to 497,4	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0,9222	
Absolute Sum of Squares	72,91	
Sy.x	4,93	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogIC50	2,203	2,203
HillSlope	0,6087	
IC50	159,7	159,7
Span	= 100	
Std. Error		
LogIC50	0,08289	0,08289
HillSlope	0,1245	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	1,983 to 2,697	1,983 to 2,697
HillSlope	0,2559 to 1,165	
IC50	96,13 to 497,4	96,13 to 497,4
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9222	0,9222
Absolute Sum of Squares	72,91	72,91
Sy.x		4,93
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	

Grafik IC50 Isolat FD1 (*Mucor* sp.)



d. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan FD2 (*Mucor* sp.)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log (konsentrasi)	Absorbansi kontrol	% Aktivitas antioksidan
	1	2	3				
10	0,1108	0,0968	0,1174	0,1107	1	0,1248	11,29
50	0,1075	0,0899	0,1051	0,1008	1,69	0,1240	18,70
100	0,0941	0,0811	0,0974	0,0898	2,00	0,1236	27,34
150	0,0646	0,0645	0,0889	0,0726	2,17	0,1235	41,21
200	0,0485	0,0367	0,0766	0,0542	2,30	0,1231	55,97

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh pada konsentrasi 10 ppm:

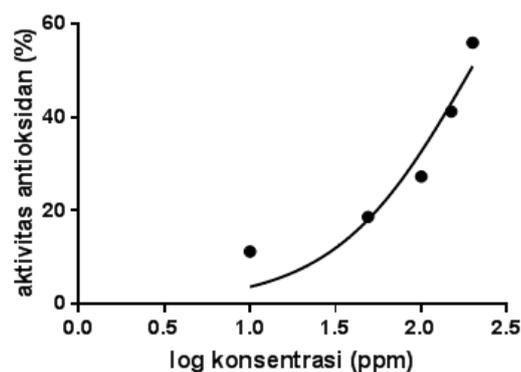
$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{0,1248 - 0,1007}{0,1248} \times 100\% \\ &= 11,29\% \end{aligned}$$

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan software “Graphad prism7” sehingga diperoleh hasil:

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	
LogIC50 different for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogIC50	2,286
HillSlope	1,1
IC50	193,3
Span	= 100
Std. Error	
LogIC50	0,07239

HillSlope	0,29	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	2,115 to 2,939	
HillSlope	0,3353 to 2,882	
IC50	130,4 to 869,4	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0,9105	
Absolute Sum of Squares	114,7	
Sy.x	6,183	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogIC50	2,286	2,286
HillSlope	1,1	
IC50	193,3	193,3
Span	= 100	
Std. Error		
LogIC50	0,07239	0,07239
HillSlope	0,29	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	2,115 to 2,939	2,115 to 2,939
HillSlope	0,3353 to 2,882	
IC50	130,4 to 869,4	130,4 to 869,4
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9105	0,9105
Absolute Sum of Squares	114,7	114,7
Sy.x		6,183
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	

Grafik IC50 Isolat FD2 (*Mucor* sp.)



e. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log (konsentrasi)	Absorbansi kontrol	% Aktivitas antioksidan
	1	2	3				
3	0,0386	0,0272	0,0172	0,0276	0,47	0,1274	78,33
6	0,0233	0,0262	0,0125	0,0206	0,77	0,1259	83,63
9	0,0223	0,0259	0,0116	0,0199	0,95	0,1243	83,99
12	0,0140	0,0148	0,0111	0,0133	1,07	0,1242	89,29
15	0,0144	0,0138	0,0106	0,0129	1,17	0,1235	89,55

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh pada konsentrasi 3 ppm:

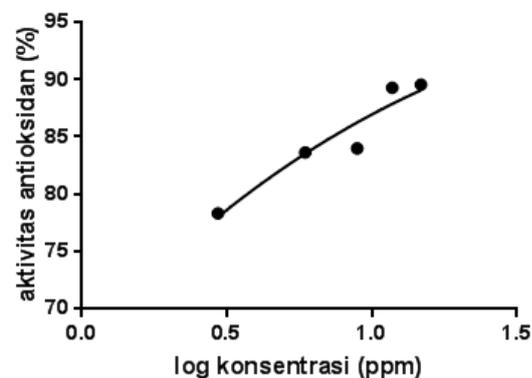
$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas Antioksidan} &= \frac{0,1274 - 0,0276}{0,1274} \times 100\% \\ &= 78,33\% \end{aligned}$$

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan software “Graphad prism7” sehingga diperoleh hasil:

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	
LogIC50 different for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogIC50	-0,5965
HillSlope	0,5158
IC50	0,2532
Span	= 100

Std. Error		
LogIC50	0,249	
HillSlope	0,09161	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	-2,411 to -0,0969	
HillSlope	0,2276 to 0,8107	
IC50	0,003882 to 0,8	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0,9131	
Absolute Sum of Squares	7,52	
Sy.x	1,583	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogIC50	-0,5965	-0,5965
HillSlope	0,5158	
IC50	0,2532	0,2532
Span	= 100	
Std. Error		
LogIC50	0,249	0,249
HillSlope	0,09161	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	-2,411 to -0,0969	-2,411 to -0,0969
HillSlope	0,2276 to 0,8107	
IC50	0,003882 to 0,8	0,003882 to 0,8
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0,9131	0,9131
Absolute Sum of Squares	7,52	7,52
Sy.x		1,583
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	

Grafik IC50 Asam Askorbat

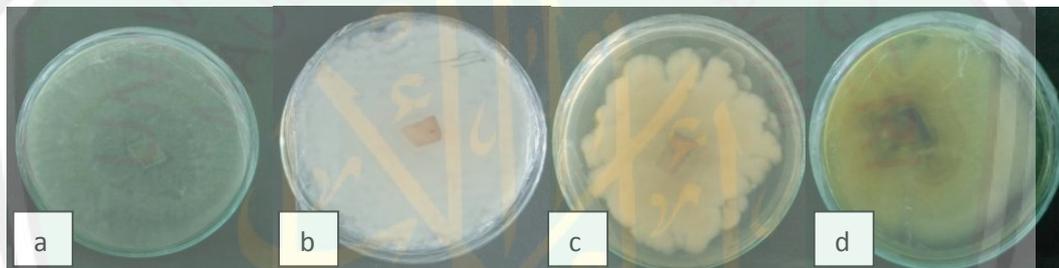


Lampiran 6. Dokumentasi

L.6.1 Gambar Hasil Isolasi Fungi Endofit

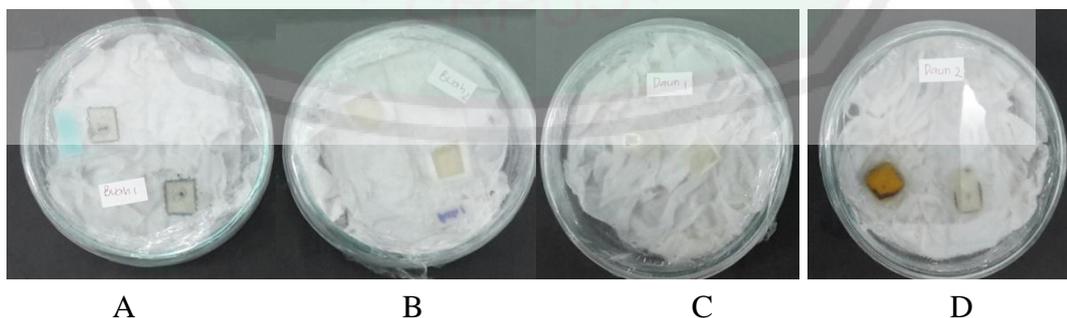


Gambar 1. Permukaan depan fungi endofit (a. *Trichoderma* sp (FB1), b. *Fusarium* sp (FB2), c. *Mucor* sp (FD1), d. *Mucor* sp (FD2)



Gambar 2. Permukaan belakang fungi endofit (a. *Trichoderma* sp (FB1), b. *Fusarium* sp (FB2), c. *Mucor* sp (FD1), d. *Mucor* sp (FD2)

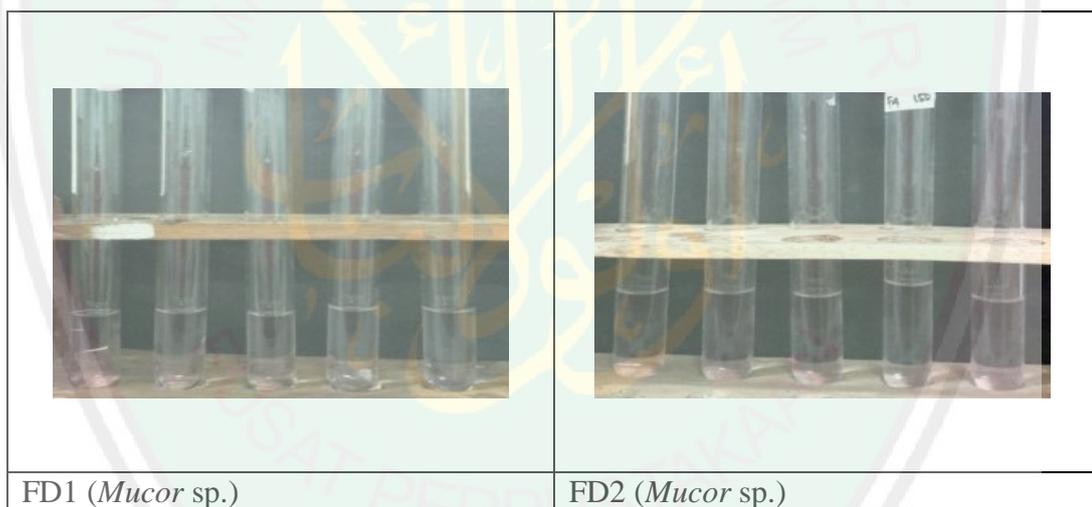
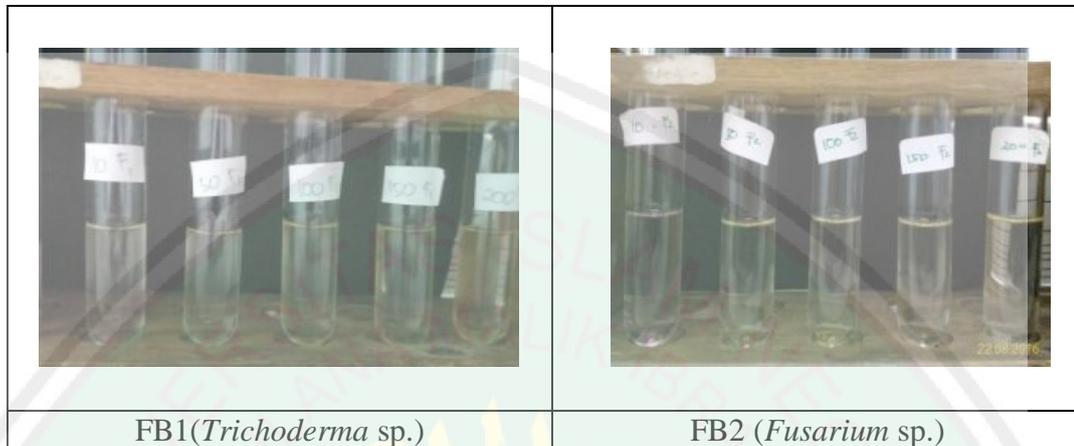
L.6.2 Foto Pemiakan Isolat Fungi Endofit untuk Identifikasi



Keterangan: A. Isolat FB1, B. Isolat FB2, C. Isolat FD1, D. Isolat FD2

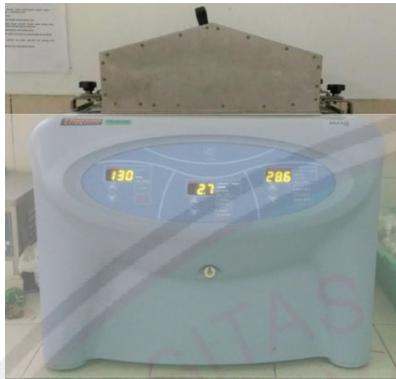
L.6.3 Foto Pengamatan Perubahan Warna Sampel pada Uji Antioksidan.

a. Warna perubahan semua sampel



b. Warna sampel asam askorbat



Lampiran 6.4. Foto Alat dan Bahan Penelitian

Shaker inkubator



Laminar Air Flow (LAF)



Autoklaf



Hotplate

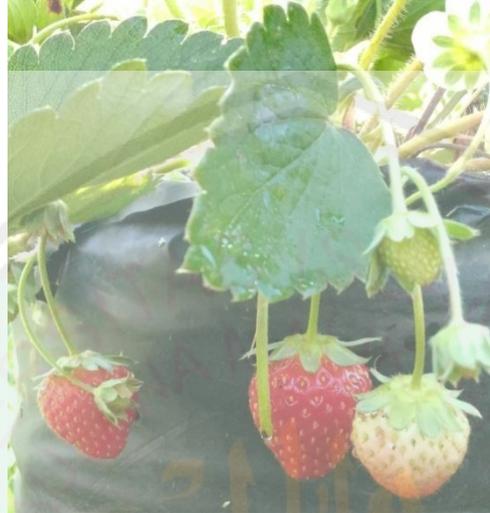


Oven



Timbangan

L.6.5. Foto Sampel Penelitian Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*)



Sampel buah dan daun strawberry yang diambil dari daerah Pandan, Pandanrejo, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu Malang.

L.6.6 Foto proses penelitian

a. Isolasi fungi endofit, pemurnian, dan identifikasi

<p>Persiapan alat dan bahan</p>	<p>Sterilisasi alat dan bahan</p>	<p>Pembuatan Media</p>

		
Proses isolasi di LAF	Pemurnian Fungi Endofit	Pembuatan stock culture dan working culture


Identifikasi Fungi Endofit

b. Pembuatan Kurva Pertumbuhan

		
Proses pertumbuhan fungi didalam shaker inkubator	Pemisahan miselia dengan media cair	Pengeringan miselia dengan oven

c. Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder

		
<p>Proses sonikasi menggunakan sonikator</p>	<p>Pemisahan supernatan dan biomassa</p>	<p>Pengocokan pada ekstraksi cair-cair</p>

	
<p>Pemisahan 2 lapisan cairan</p>	<p>Penguapan dengan N₂</p>

d. Uji Aktivitas Antioksidan

Memasukkan sampel dan DPPH dalam labu ukur menggunakan mikropipet



Pengovenan sampel selama 30 menit



Pengukuran absorbansi sampel

➤ **Data Absorbansi menggunakan UV-Vis**

1. Absorbansi FB1 (*Trichoderma* sp.)

a. Ulangan 1.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1006)	515.0

Analysis

Collection time 8/29/2016 2:38:14 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1380
					0.1399
		0.1388	0.0010	0.69	0.1386
10 ppm					0.1100
					0.1134
		0.1112	0.0019	1.74	0.1101
Kontrol					0.1357
					0.1353
		0.1355	0.0002	0.17	0.1357
50 ppm					0.1041
					0.1042
		0.1041	0.0001	0.05	0.1041
Kontrol					0.1352
					0.1349
		0.1351	0.0002	0.11	0.1352
100 ppm					0.0901
					0.0892
		0.0894	0.0006	0.65	0.0890
Kontrol					0.1341
					0.1350
		0.1350	0.0009	0.67	0.1359
150 ppm					0.0559
					0.0557
		0.0558	0.0002	0.30	0.0556
Kontrol					0.1328
					0.1329
		0.1329	0.0002	0.14	0.1331
200 ppm					0.0421
					0.0420
		0.0420	0.0001	0.20	0.0419

b. Ulangan 2.**Zero Report**

Read	Abs	nm
Zero	(0.1053)	515.0

Analysis

Collection time 9/2/2016 2:27:21 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1250 0.1248 0.1251
10 ppm		0.0928	0.0006	0.69	0.0936 0.0926 0.0923
Kontrol		0.1249	0.0003	0.28	0.1246 0.1248 0.1252
50 ppm		0.0555	0.0001	0.14	0.0556 0.0555 0.0554
Kontrol		0.1247	0.0001	0.11	0.1246 0.1248 0.1248
100 ppm		0.0096	0.0000	0.34	0.0095 0.0096 0.0096
Kontrol		0.1246	0.0001	0.06	0.1246 0.1246 0.1247
150 ppm		0.0032	0.0001	3.16	0.0033 0.0033 0.0031
Kontrol		0.1241	0.0001	0.07	0.1242 0.1242 0.1240
200 ppm		0.0022	0.0000	2.32	0.0021 0.0022 0.0022

c. Ulangan 3.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1014)	515.0

Analysis

Collection time 9/6/2016 2:29:27 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1027 0.1028 0.1026
10 ppm		0.1027	0.0001	0.12	0.0882 0.0876 0.0888
Kontrol		0.0882	0.0006	0.69	0.1024 0.1023 0.1023
50 ppm		0.1023	0.0001	0.08	0.0686 0.0683 0.0682
Kontrol		0.0683	0.0002	0.31	0.1019 0.1015 0.1014
100 ppm		0.1016	0.0003	0.28	0.0586 0.0579 0.0593
Kontrol		0.0586	0.0007	1.22	0.1011 0.1014 0.1014
150 ppm		0.1013	0.0002	0.18	0.0586 0.0548 0.0582
Kontrol		0.0572	0.0021	3.68	0.1006 0.1006 0.1007
200 ppm		0.1006	0.0001	0.10	0.0316 0.0324 0.0310

2. Absorbansi FB2 (*Fusarium sp.*)

a. Ulangan 1.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0932)	515.0

Analysis

Collection time 8/22/2016 3:29:42 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1519 0.1529 0.1525
10 ppm		0.1524	0.0005	0.31	0.1483 0.1478 0.1476
Kontrol		0.1479	0.0004	0.28	0.1519 0.1525 0.1528
50 ppm		0.1524	0.0004	0.29	0.1245 0.1237 0.1242
Kontrol		0.1241	0.0004	0.32	0.1514 0.1520 0.1522
100 ppm		0.1519	0.0004	0.29	0.0981 0.0981 0.0984
Kontrol		0.0982	0.0002	0.17	0.1517 0.1515 0.1513
150 ppm		0.1515	0.0002	0.14	0.0835 0.0835 0.0834
Kontrol		0.0835	0.0001	0.08	0.1510 0.1507 0.1509
200 ppm		0.1509	0.0002	0.11	0.0759 0.0761 0.0760
		0.0760	0.0001	0.15	

b. Ulangan 2

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0933)	515.0

Analysis

Collection time 8/22/2016 2:22:03 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1403 0.1398 0.1396
10 ppm		0.1209	0.0005	0.43	0.1213 0.1211 0.1203
Kontrol		0.1390	0.0002	0.14	0.1392 0.1389 0.1388
50 ppm		0.0651	0.0007	1.13	0.0659 0.0644 0.0650
Kontrol		0.1376	0.0001	0.07	0.1376 0.1375 0.1376
100 ppm		0.0578	0.0007	1.14	0.0585 0.0575 0.0573
Kontrol		0.1369	0.0005	0.36	0.1374 0.1364 0.1367
150 ppm		0.0399	0.0014	3.48	0.0404 0.0409 0.0383
Kontrol		0.1358	0.0001	0.05	0.1358 0.1357 0.1359
200 ppm		0.0365	0.0002	0.59	0.0363 0.0367 0.0363

c. Ulangan 3.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1014)	515.0

Analysis

Collection time 9/2/2016 2:26:06 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1269 0.1272 0.1269
10 ppm		0.1147 0.1151 0.1149	0.0002	0.15 0.14	0.1147 0.1151 0.1149
Kontrol					0.1258 0.1256 0.1260
50 ppm		0.1258 0.0482 0.0480 0.0478	0.0002 0.0005	0.16 0.96	0.1258 0.1256 0.1260 0.0482 0.0480 0.0473
Kontrol					0.1248 0.1249 0.1249
100 ppm		0.1249 0.0453 0.0450 0.0451	0.0001 0.0002	0.07 0.43	0.1248 0.1249 0.1249 0.0453 0.0450 0.0449
Kontrol					0.1247 0.1247 0.1247
150 ppm		0.1247 0.0389 0.0374 0.0380	0.0000 0.0008	0.03 2.00	0.1247 0.1247 0.1247 0.0389 0.0374 0.0378
Kontrol					0.1243 0.1209 0.1180
200 ppm		0.1211 0.0344 0.0344 0.0343	0.0031 0.0002	2.59 0.51	0.1243 0.1209 0.1180 0.0344 0.0344 0.0341

3. Absorbansi FD1 (*Mucor* sp.)

a. Ulangan 1

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0929)	515.0

Analysis

Collection time 8/25/2016 2:34:01 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1361 0.1359 0.1359
10 ppm		0.1130	0.0001	0.07	0.1129 0.1129 0.1133
Kontrol					0.1361 0.1359 0.1357
50 ppm		0.1016	0.0001	0.13	0.1016 0.1018 0.1015
Kontrol					0.1362 0.1361 0.1362
100 ppm		0.0859	0.0001	0.03	0.0858 0.0860 0.0860
Kontrol					0.1354 0.1355 0.1360
150 ppm		0.0785	0.0001	0.22	0.0786 0.0784 0.0784
Kontrol					0.1354 0.1355 0.1356
200 ppm		0.0712	0.0001	0.08	0.0715 0.0712 0.0710

b. Ulangan 2.**Zero Report**

Read	Abs	nm
Zero	(0.1014)	515.0

Analysis

Collection time 8/25/2016 2:29:27 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1027 0.1028 0.1026
10 ppm		0.0882	0.0006	0.69	0.0882 0.0876 0.0888
Kontrol		0.1023	0.0001	0.08	0.1024 0.1023 0.1023
50 ppm		0.0683	0.0002	0.31	0.0686 0.0683 0.0682
Kontrol		0.1016	0.0003	0.28	0.1019 0.1015 0.1014
100 ppm		0.0586	0.0007	1.22	0.0586 0.0579 0.0593
Kontrol		0.1013	0.0002	0.18	0.1011 0.1014 0.1014
150 ppm		0.0572	0.0021	3.68	0.0586 0.0548 0.0582
Kontrol		0.1006	0.0001	0.10	0.1006 0.1006 0.1007
200 ppm		0.0317	0.0007	2.15	0.0316 0.0324 0.0310

c. Ulangan 3.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1000)	515.0

Analysis

Collection time 9/2/2016 2:39:50 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1023 0.1012 0.1006
10 ppm		0.0746	0.0008	1.13	0.0753 0.0748 0.0737
Kontrol		0.1003	0.0003	0.27	0.1002 0.1006 0.1001
50 ppm		0.0626	0.0004	0.59	0.0625 0.0630 0.0623
Kontrol		0.1000	0.0001	0.13	0.1000 0.0998 0.1001
100 ppm		0.0609	0.0011	1.79	0.0607 0.0599 0.0620
Kontrol		0.0998	0.0001	0.11	0.0997 0.0999 0.0998
150 ppm		0.0459	0.0006	1.27	0.0464 0.0461 0.0453
Kontrol		0.0995	0.0002	0.16	0.0997 0.0993 0.0994
200 ppm		0.0328	0.0004	1.24	0.0330 0.0331 0.0324

4. Absorbansi FD2 (*Mucor* sp.)

a. Ulangan 1.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0935)	515.0

Analysis

Collection time 8/24/2016 3:01:47 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1371 0.1372 0.1371
		0.1371	0.0001	0.04	
10 ppm					0.1180 0.1183 0.1177
		0.1180	0.0003	0.27	
Kontrol					0.1351 0.1351 0.1351
		0.1351	0.0000	0.02	
50 ppm					0.1076 0.1074 0.1076
		0.1075	0.0001	0.10	
Kontrol					0.1349 0.1349 0.1348
		0.1349	0.0001	0.05	
100 ppm					0.0940 0.0942 0.0942
		0.0941	0.0001	0.14	
Kontrol					0.1347 0.1347 0.1347
		0.1347	0.0000	0.01	
150 ppm					0.0646 0.0647 0.0645
		0.0646	0.0001	0.20	
Kontrol					0.1346 0.1346 0.1344
		0.1345	0.0001	0.11	
200 ppm					0.0485 0.0483 0.0488
		0.0485	0.0002	0.49	

b. Ulangan 2.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1146)	515.0

Analysis

Collection time 9/6/2016 3:08:38 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1023 0.1023 0.1023
10 ppm		0.0968	0.0022	2.28	0.0952 0.0959 0.0993
Kontrol		0.1020	0.0001	0.11	0.1021 0.1019 0.1019
50 ppm		0.0899	0.0000	0.04	0.0900 0.0899 0.0899
Kontrol		0.1014	0.0001	0.08	0.1015 0.1013 0.1015
100 ppm		0.0811	0.0016	2.02	0.0792 0.0816 0.0824
Kontrol		0.1012	0.0001	0.13	0.1013 0.1010 0.1012
150 ppm		0.0645	0.0016	2.55	0.0660 0.0648 0.0628
Kontrol		0.1008	0.0000	0.05	0.1009 0.1008 0.1008
200 ppm		0.0367	0.0002	0.58	0.0364 0.0367 0.0369

c. Ulangan 3.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0931)	515.0

Analysis

Collection time 9/6/2016 2:39:45 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1347 0.1352 0.1349
10 ppm		0.1174	0.0003	0.22	0.1177 0.1172 0.1174
Kontrol		0.1348	0.0001	0.08	0.1347 0.1348 0.1349
50 ppm		0.1051	0.0001	0.11	0.1052 0.1050 0.1052
Kontrol		0.1347	0.0004	0.27	0.1343 0.1348 0.1351
100 ppm		0.0974	0.0001	0.13	0.0974 0.0975 0.0973
Kontrol		0.1347	0.0001	0.06	0.1347 0.1346 0.1347
150 ppm		0.0889	0.0002	0.20	0.0891 0.0887 0.0890
Kontrol		0.1342	0.0001	0.10	0.1343 0.1342 0.1341
200 ppm		0.0766	0.0007	0.87	0.0761 0.0763 0.0773

5. Absorbansi Asam Askorbat

a. Ulangan 1.

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0910)	515.0

Analysis

Collection time 8/23/2016 1:52:45 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1057 0.1074 0.1056
3 ppm		0.1062	0.0010	0.96	0.0387 0.0381 0.0390
Kontrol		0.1050	0.0001	0.08	0.1049 0.1050 0.1050
6 ppm		0.0233	0.0005	1.95	0.0230 0.0231 0.0238
Kontrol		0.1041	0.0002	0.20	0.1040 0.1039 0.1043
9 ppm		0.0223	0.0010	4.28	0.0212 0.0228 0.0229
Kontrol		0.1037	0.0003	0.28	0.1035 0.1037 0.1040
12 ppm		0.0140	0.0011	7.81	0.0128 0.0149 0.0142
Kontrol		0.1032	0.0003	0.30	0.1033 0.1028 0.1034
15 ppm		0.0144	0.0012	7.99	0.0134 0.0142 0.0157

b. Ulangan 2.**Zero Report**

Read	Abs	nm
Zero	(0.0938)	515.0

Analysis

Collection time 8/23/2016 3:01:51 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1290 0.1287 0.1289
3 ppm		0.0272	0.0000	0.09	0.0272 0.0272 0.0271
Kontrol		0.1265	0.0002	0.16	0.1266 0.1262 0.1266
6 ppm		0.0262	0.0001	0.48	0.0263 0.0262 0.0261
Kontrol		0.1255	0.0004	0.29	0.1254 0.1253 0.1259
9 ppm		0.0259	0.0001	0.37	0.0258 0.0260 0.0260
Kontrol		0.1253	0.0001	0.10	0.1252 0.1252 0.1254
12 ppm		0.0148	0.0001	0.68	0.0147 0.0149 0.0148
Kontrol		0.1246	0.0001	0.12	0.1245 0.1246 0.1248
15 ppm		0.0138	0.0001	0.51	0.0139 0.0138 0.0138

c. Ulangan 3.**Zero Report**

Read	Abs	nm
Zero	(0.0917)	515.0

Analysis

Collection time 8/24/2016 1:51:22 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1474 0.1474 0.1472
3 ppm		0.0172	0.0023	13.36	0.0191 0.0178 0.0147
Kontrol		0.1462	0.0002	0.12	0.1461 0.1462 0.1464
6 ppm		0.0125	0.0003	2.43	0.0125 0.0128 0.0122
Kontrol		0.1439	0.0009	0.66	0.1450 0.1433 0.1434
9 ppm		0.0116	0.0008	6.75	0.0126 0.0112 0.0111
Kontrol		0.1438	0.0001	0.07	0.1439 0.1439 0.1437
12 ppm		0.0111	0.0001	0.66	0.0112 0.0112 0.0111
Kontrol		0.1428	0.0001	0.05	0.1429 0.1427 0.1428
15 ppm		0.0106	0.0001	1.26	0.0108 0.0107 0.0105



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Emilia Rahmawati
NIM : 12620047
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan
Dosen Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

No	Tanggal	Perihal	Tanda Tangan
1	22 Februari 2016	Konsultasi Bab I	
2	29 Februari 2016	Revisi Bab I	
3	09 Maret 2016	Konsultasi Bab I dan II	
4	18 Maret 2016	Revisi Bab I dan II	
5	21 Maret 2016	ACC Bab I, II, III	
6	23 Agustus 2016	Konsultasi Bab IV	
7	27 September 2016	Konsultasi Bab IV	
8	14 Desember 2016	Konsultasi Naskah Keseluruhan	
9	21 Desember 2016	ACC Naskah Keseluruhan	

Malang, 10 Januari 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Emilia Rahmawati
NIM : 12620047
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan
Dosen Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

No	Tanggal	Perihal	Tanda Tangan
1	22 Februari 2016	Konsultasi Bab I	A
2	29 Februari 2016	Revisi Bab I	A
3	09 Maret 2016	Konsultasi Bab I dan II	A
4	18 Maret 2016	Revisi Bab I dan II	A
5	21 Maret 2016	ACC Bab I, II, III	A
6	23 Agustus 2016	Konsultasi Bab IV	A
7	27 September 2016	Konsultasi Bab IV	A
8	14 Desember 2016	Konsultasi Naskah Keseluruhan	A
9	21 Desember 2016	ACC Naskah Keseluruhan	A

Malang, 10 Januari 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002