

## **Antioxydant Extract of Endophytic fungi *Fusarium oxysporum* LBKURCC41**

### **Antioksidan dari Ekstrak Jamur Endofit *Fusarium oxysporum* LBKURCC41**

**Sri Marlinda<sup>1</sup>, Hilwan Yuda Teruna<sup>1</sup>, Nova Wahyu Pratiwi<sup>2</sup>,  
Aulia Ardhi<sup>3</sup>, dan Saryono<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau,  
Pekanbaru 28293

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau,  
Pekanbaru 28293

<sup>3</sup>Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,  
Universitas Gadjja Mada, Yogyakarta 55281

\*saryono@lecturer.unri.ac.id

#### **ABSTRACT**

*Fusarium oxysporum* LBKURCC41 is one of endophyte fungi which is able to produce secondary metabolites. The purpose of this research was to discover an antioxidant agent from *F. oxysporum* LBKURCC41 extract that was fermented in Huang medium for 15 d with of corn and potato with particle size of 80 mesh as carbon sources. The ethyl acetate extract from the cultured medium showed four dominant component with retention time of 3.24, 3.44, 17.02 and 18.889 min. The *F. oxysporum* LBKURCC41 extract containing compounds with functional group O-H, C-H and C-O, and it had a  $IC_{50}$  value of  $435,157 \pm 12,009^a$ .

**Keywords:** antioxidant, fermentation, *Fusarium oxysporum*, secondary metabolites.

#### **ABSTRAK**

Jamur *Fusarium oxysporum* LBKURCC41 adalah salah satu jamur endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan suatu agen antioksidan dari *F. oxysporum* LBKURCC41 yang difermentasi dengan media Huang selama 15 hari dengan menggunakan jagung dan kentang dengan ukuran partikel 80 mesh sebagai sumber karbon. Ekstrak metabolit yang telah diekstraksi dengan etil asetat menunjukkan adanya 4 komponen dengan waktu retensi 3,24; 3,44; 17,02 dan 18,889 menit. Ekstrak metabolit dari *F. oxysporum* LBKURCC41 Hasil FTIR ekstrak mengandung beberapa gugus fungsi seperti O-H, C-H, dan C-O, dan memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $435,157 \pm 12,009^a$ .

**Kata kunci:** antioksidan, fermentasi, *Fusarium oxysporum*, metabolit sekunder.

#### **PENDAHULUAN**

Jamur endofit merupakan jamur yang hidup dalam jaringan tanaman dengan cara simbiosis mutualisme (Simarmata *et al.* 2007). Jamur endofit masuk ke dalam jaringan tanaman bisa melalui beberapa cara diantaranya dengan menghasilkan enzim ekstraseluler dan dapat juga melalui jaringan yang luka.

Jamur endofit hidup dalam jaringan tanaman dan mengalami koevolusi di dalam jaringan tanaman inangnya. Selama proses koevolusi mikroba dapat melakukan adaptasi dengan lingkungannya untuk mencocokkan variasi genetik termasuk mengambil beberapa segmen DNA tanaman dan dimasukkan ke dalam genomnya (Zhao *et al.* 2011). Beberapa mikroba endofit seperti *Fusarium* sp yang diisolasi tanaman *Pelargonium sidoides* memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas sebagai antibakteri (Mangayi *et al.* 2018), *Fusarium chlamydosporium* yang diisolasi dari *Anvillea garcinii* mampu menghasilkan benzamida yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan sitotoksik (Ibrahim *et al.*, 2018). Pada penelitian lainnya beberapa mikroba endofit seperti *Aspergillus flavus* yang diisolasi dari tanaman *Chenopodium album* memiliki aktivitas antioksidan (Lubna *et al.* 2018).

*Fusarium oxysporum* LBKURCC41 merupakan jamur endofit yang telah diisolasi dari umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) berwarna merah (Lorenita *et al.* 2013), dan telah dilakukan identifikasi molekular menggunakan daerah ITS (Saryono *et al.* 2015). Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa jamur *F. oxysporum* LBKURCC41 diketahui memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder jenis saponin dengan menggunakan media Huang dan memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Fitriyah *et al.* 2013). Sumber karbon untuk produksi metabolit sekunder yang digunakan dalam media Huang adalah sukrosa, namun dapat dimodifikasi dengan sumber karbon lain seperti jagung dan kentang.

Mikroba mampu melakukan metabolisme dan memiliki kemampuan menghasilkan metabolit yang berbeda sesuai dengan prekursor yang terdapat dalam media produksi. Adanya perbedaan metabolit menyebabkan adanya perbedaan aktivitas biologis. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dari jamur endofit *F. oxysporum* LBKURCC41.

## BAHAN DAN METODE

Bahan baku sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini dibeli di pasar tradisional Pekanbaru. LBKURCC41 merupakan koleksi mikroba endofit dari Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, *Potato Dextrosa Agar* (PDA), *Potato Dextrosa Broth* (PDB), NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, ekstrak ragi, KCl, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, FeSO<sub>4</sub>, Semua bahan kimia yang digunakan adalah produk Merck, Jerman.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: peralatan gelas yang umum dipakai di laboratorium, autoklaf Electric Model No.25 X (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc, Monitowoc), *rotary evaporator*, HPLC (Shimadzu LC solution serin UFLC, Kyoto, Japan), shaking incubator model LSI 201 6R

(Daihan Lab Tech Co. LTD), FTIR (Shimadzu, IR Prestige-21) dan spektrofotometer UV-Vis Genesis 10S (Thermo Scientific).

### **Peremajaan mikroba dan Pembuatan inokulum.**

*F. oxysporum* LBKURCC41 diremajakan secara aseptis pada medium PDA steril, kemudian di inkubasi selama 96 jam pada suhu kamar. Selanjutnya spora dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis (0,8%) dan kerapatan optik diukur pada panjang gelombang 660 nm. Suspensi diinokulasi dengan jumlah spora  $\sim 7 \times 10^{12}$  (OD = 0,34) (Sawitri, 2010) pada medium diaduk menggunakan shaker incubator selama 96 jam pada suhu kamar. Inokulum yang diperoleh digunakan sebagai bibit *F. oxysporum* LBKURCC41.

### **Produksi senyawa metabolit sekunder.**

Bibit *F. oxysporum* LBKURCC41 ditanam medium Huang ( sumber karbon berasal dari jagung 1,5 g dan kentang 1,5g, NaNO<sub>3</sub> 0,3 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 g, ekstrak ragi 0,1 g, KCl 0,05 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,05 g, FeSO<sub>4</sub> 0,001 g dan akua DM 100 mL) dan difermentasi pada suhu kamar selama 15 hari. Spora *F. oxysporum* LBKURCC41 dipisahkan dengan menggunakan penyaring Buchner, diikuti dengan ekstraksi sisa medium menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak etil asetat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak metabolit sekunder dari jamur endofit, dan gabungan antara ekstrak etil asetat dengan dengan asam askorbat dan dianalisis analisis komponennya dengan HPLC. Analisis gugus fungsi ekstrak metabolit sekunder dilakukan menggunakan FTIR.

### **Uji aktivitas antioksidan.**

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader two fold delution* dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) (Zhang *et al.*, 2006) pada panjang gelombang 530 nm dengan konsentrasi uji 1000 hingga 31,25 ppm. Sampel dibuat dengan konsentrasi larutan induk 1000 ppm. Sebanyak 100  $\mu$ L dari larutan induk 1000  $\mu$ g/mL dimasukkan kedalam *microplate* baris A. Kemudian dipipet sebanyak 50  $\mu$ L dari *microplate* baris A kedalam *microplate* baris B, langkah tersebut dilakukan secara berulang sampai pada *microplate* baris F sehingga diperoleh konsentrasi pengenceran 500; 250; 125; 62,5; 31,25  $\mu$ g/mL. Larutan DPPH dipipet sebanyak 80  $\mu$ L ke dalam *microplate* dari baris A-G lalu diinkubasi selama 30 menit. Kontrol positif yang digunakan adalah asam askorbat, pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 530 nm. Semua uji dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi metabolit sekunder dari *F. oxysporum* LBKURCC41 menggunakan sumber karbon alami yaitu jagung+kentang. Sumber karbon ini memiliki nilai yang lebih ekonomis sehingga dapat menurunkan biaya produksi suatu metabolit. Pada kentang+jagung terdapat berbagai komponen mikromolekul seperti kalsium, posfor, besi, vitamin A, B, dan C yang dapat digunakan sebagai sumber kofaktor dan koenzim pada saat mikroba mengalami fase eksponensial.

Sumber karbon jagung+kentang juga mengandung makromolekul seperti karbohidrat, protein dan lemak yang diharapkan dapat sebagai komponen tambahan sumber karbon pada saat mikroba memasuki fase stasioner, sehingga ekstrak metabolit yang dihasilkan diharapkan lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan satu sumber karbon.

Isolasi metabolit sekunder dari jamur endofit *F. oxysporum* dilakukan menggunakan fermentasi *batch*. Ekstrak metabolit yang diperoleh terdapat didalam media produksi sehingga untuk memisahkan ekstrak dengan komponen media yang masih terpisah dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Hasil ekstraksi dengan etil asetat membentuk 3 lapisan yaitu lapisan etil asetat, minyak dan air (Gambar 1).

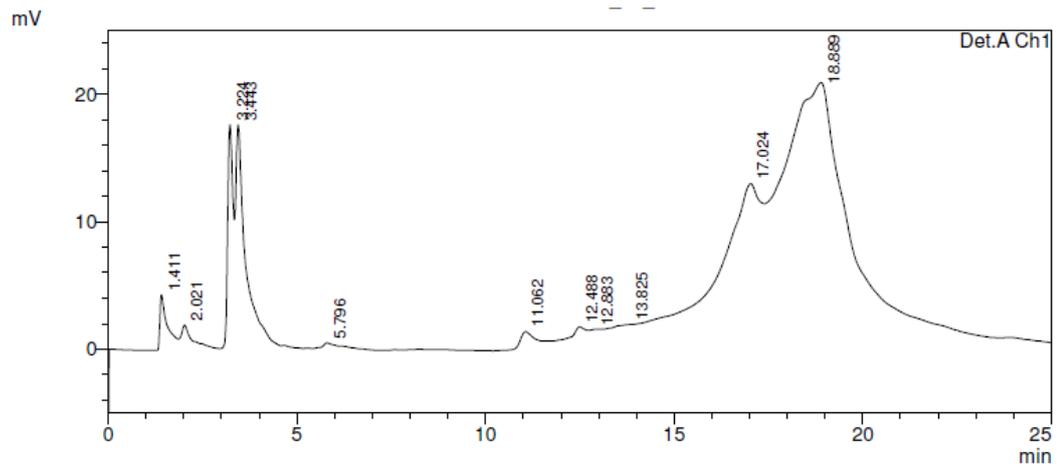
Lapisan etil asetat berada paling atas karena memiliki berat jenis paling ringan dibandingkan dengan lapisan lainnya. Lapisan lemak dan air merupakan produk sisa metabolit. Pada lapisan air diduga masih terdapat sisa-sisa medium produksi, sehingga tidak dilanjutkan untuk tahapan sebelumnya. Lapisan yang diambil yaitu lapisan etil asetat karena ekstrak metabolit yang diharapkan terdapat dalam lapisan ekstrak etil asetat. Ekstrak metaboilt sekunder yang diperoleh dilarutkan dengan metanol pada konsentrasi 1000 ppm. Analisis dengan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 254 nm yang diperoleh menggunakan spektrofometer UV-Vis pada tahap sebelumnya. Hasil kromatogram HPLC fase terbalik untuk ekstrak jagung+kentang dapat dilihat pada gambar Gambar 2.

Hasil kromatogram menunjukkan terdapat 4 komponen dominan yaitu pada waktu retensi 3,24; 3,44; 17,02 dan 18,889 menit. Ekstrak metaboilt sekunder yang telah digabungkan dengan asam askorbat di analisis dengan HPLC d pada panjang gelombang 254 nm dengan fase terbalik untuk ekstrak jagung+kentang dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil analisis pada Gambar 3 menunjukkan adanya overlap pada waktu 3,16 menit yang menunjukkan adanya komponen dari ekstrak metabolit sekunder yang memiliki kandungan gugus fungsi yang mirip dengan gugus fungsi yang terdapat pada asam askorbat. Hal ini memungkinkan adanya potensi aktivitas antioksidan dari ekstrak yang diperoleh dari jamur endofit.



Gambar 1. (a) Hasil ekstraksi menggunakan etil asetat (b) pemisahan hasil ekstraksi yang membentuk 3 lapisan yaitu etil asetat, lemak dan air (dari kiri ke kanan).

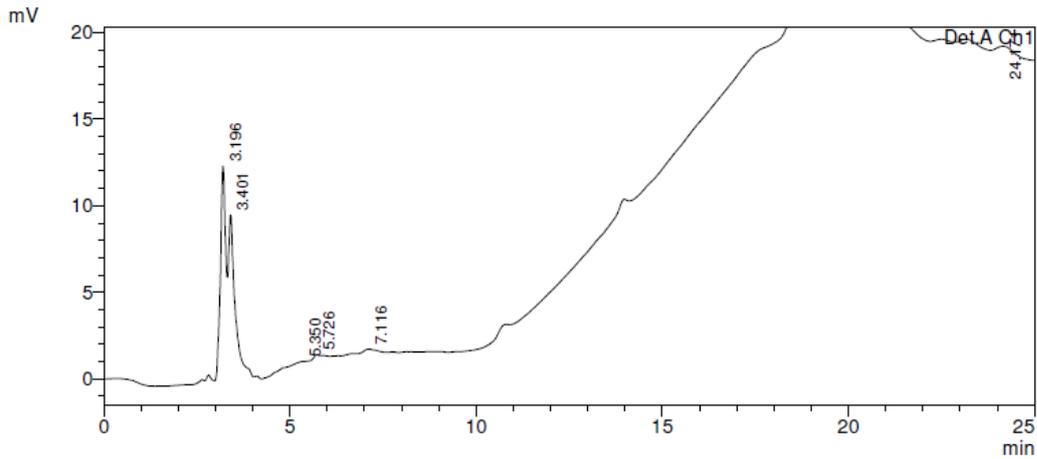


Gambar 2. Kromatogram ekstrak etil asetat jagung+kentang yang difermentasi selama 15 hari pada panjang gelombang 254 nm.

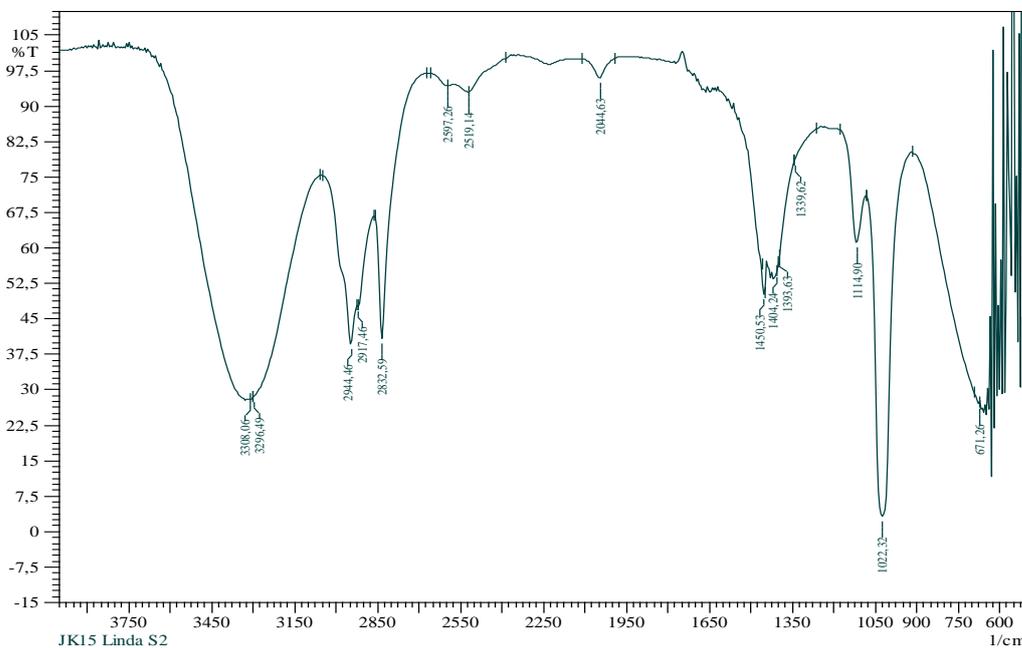
Karakterisasi gugus fungsi yang terkandung pada ekstrak dapat dilakukan dengan menggunakan FTIR. Spektrum FTIR dari ekstrak etil asetat dari jamur *F.oxysporum* dapat dilihat pada Gambar 4.

Spektrum inframerah untuk ekstrak etil esatad dari jamur *F. oxysporum* LBKURCC41 menunjukkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3308 dan  $3296\text{ cm}^{-1}$  (kuat) mengindikasikan adanya vibrasi gugus O-H ulur, pada bilangan gelombang 2944, 2914 dan  $2832\text{ cm}^{-1}$  (kuat) mengindikasikan adanya vibrasi ulur C-H alifatik alkana, pada bilangan gelombang 1450 dan  $1404\text{ cm}^{-1}$  (sedang) mengindikasikan adanya vibrasi tekuk C-H alkana, pada bilangan gelombang  $1393\text{ cm}^{-1}$  (sedang) mengindikasikan adanya vibrasi tekuk C-H alkana, pada bilangan gelombang  $1022\text{ cm}^{-1}$  (kuat) mengindikasikan adanya vibrasi ulur C-O.

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa berasal dari gugus fungsi tertentu yang memiliki pasangan elektron bebas, seperti O-H dan N-H. Ekstrak metabolit sekunder yang diperoleh dari jamur endofit memiliki aktivitas antioksidan yang diduga adanya gugus O-H yang terdapat didalam ekstrak.



Gambar 3. Kromatogram metabolit sekunder dari jamur *Fusarium oxysporum* LBKURCC41.



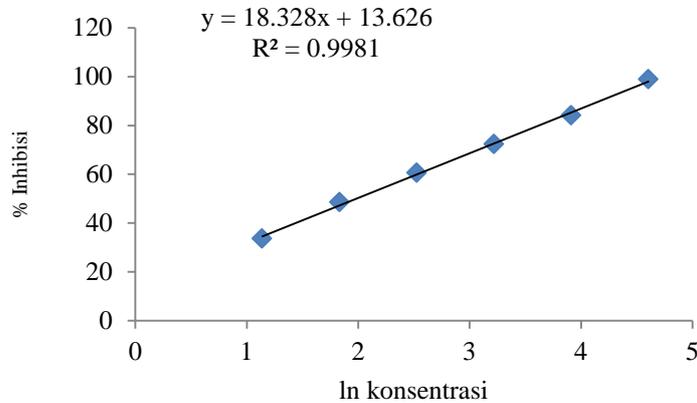
Gambar 4. Spektrum IR ekstrak etil asetat metabolit sekunder dari jamur *Fusarium oxysporum* LBKURCC41.

Ekstrak etil asetat yang diperoleh dari jamur *F. oxysporum* uji aktivitas antioksidannya menggunakan DPPH. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat yang dibuat pada konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, 6,25 dan 3,125 ppm. Aktitivitas antioksidan dari ekstrak dapat dilihat pada Gambar 5.

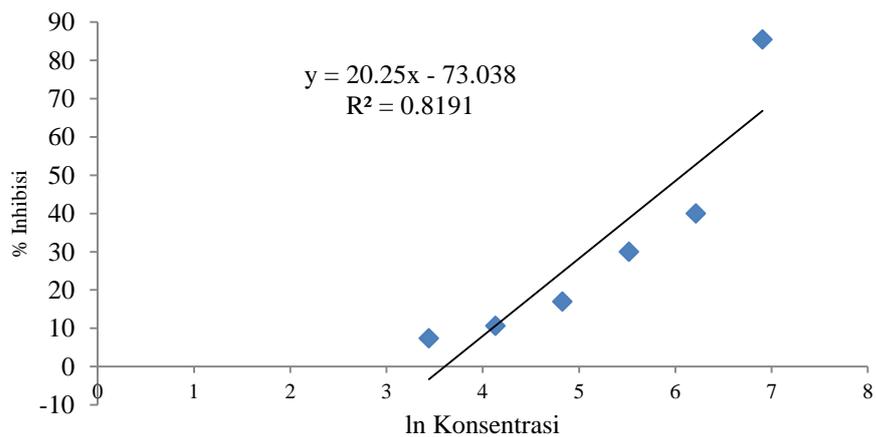
Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat jamur *F. oxysporum* dengan metode DPPH yang dibuat pada konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 ppm dapat dilihat pada Gambar 6.

Hasil analisis uji t aktivitas antioksidan dari ekstrak metabolit sekunder jamur endofit dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak jamur endofit memiliki nilai antioksidan yang berbeda secara nyata dengan asam askorbat. Hal ini disebabkan

karena senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak masih tercampur dengan senyawa lainnya yang diduga tidak mengandung aktivitas antioksidan, atau karena adanya efek sinergis dari senyawa-senyawa yang terdapat didalam ekstrak yang dapat menurunkan aktivitas antioksidan.



Gambar 5. Kurva ln konsentrasi vs inhibisi asam askorbat



Gambar 6. Kurva ln konsentrasi vs inhibisi ekstrak metabolit sekunder jamur endofit.

Tabel 1. Hasil uji t aktivitas antioksidan untuk asam askorbat dan sampel

Komponen yang diuji	Aktivitas antioksidan (IC <sub>50</sub> ) (µg/mL)
Asam askorbat	7,281±0,207 <sup>b</sup>
Sampel	435,157±12,009 <sup>a</sup>

Catatan (a,b) nilai yang diikuti pangkat huruf yang berbeda adalah berbeda nyata pada tingkat 5% berdasarkan uji t.

Persamaan regresi linear hubungan antara konsentrasi ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit *F. oxysporum* diperoleh  $y = 20.25x - 73.038$ , dan untuk pembandingan asam askorbat  $y = 18.328x + 13.626$ . Berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dapat diperoleh nilai IC<sub>50</sub> 7,281±0,207<sup>b</sup> untuk asam askorbat dan 435,157±12,009<sup>a</sup> untuk ekstrak metabolit sekunder jamur endofit.

Ekstrak metabolit sekunder dari jamur endofit *F. oxysporum* LBKURCC41 tergolong antioksidan lemah karena nilai  $IC_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$  (Putri dan Hidajati, 2015). Aktivitas antioksidan *F. oxysporum* LBKURCC41 ekstrak etil asetat memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metabolit sekunder *Fusarium* sp yang diisolasi dari akar tanaman *Phyllanthus niruri* yang memiliki nilai  $IC_{50} 10,16 \pm 0,88 \mu\text{g/mL}$  (Rollando *et al.* 2017). Akan tetapi, ekstrak etil asetat *F. oxysporum* LBKURCC41 tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang baik pertumbuhan mikroba patogen *S. aureus* dan *E. coli* dengan daya hambat 8 mm dan 6 mm (Shinta *et al.*, 2015).

### SIMPULAN

Jamur endofit *F. oxysporum* LBKURCC41 mampu menghasilkan metabolit sekunder. Berdasarkan hasil FTIR terlihat bahwa ekstrak mengandung gugus fungsi seperti O-H yang dapat berperan sebagai agen antioksidan. Ekstrak etil asetat yang diperoleh memiliki aktivitas antioksidan yang rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu  $435,157 \pm 12,009^a$ .

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DPRM Ditjen Risbang Kemenristekdikti melalui Lembaga Penelitian Universitas Riau yang telah membantu membiayai penelitian ini melalui Dana Penelitian Tim Pascasarjana a.n Prof. Dr. Saryono, M. Si sebagai Ketua Tim Peneliti dengan nomor kontrak 510/UN.19.5.1.3/PP/2017.

### DAFTAR PUSTAKA

- Fitriyah, D., Christine, J., dan Saryono.** 2013. "Skrining Aktivitas Antimikroba Dan Uji Fitokimia Dari Kapang Endofitik Tanaman Dahlia (*Dahlia Variabilis*)." *Journal Indonesia Acta* 3(2): 50-55
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H., & Sun, M.** 2007. Endophytic fungi from *Nerium oleander* L (Apocynaceae) main constituents and antioxidant activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23:9:1253-1263.
- Ibrahim, S. R. M., Mohamed, G, A., Alhaidari, R. A., Zayed, M. F., Elkholy, A. A., Elkhayat, E. S., & Ross, S. A.** 2018. Fusarithioamide B, a new benzamide derivative from the endophytic fungus *Fusarium chlamudosporium* with potent cytotoxic and antimicrobial activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 26: 786-790.
- Lorenita, M, Haryani, Y., Puspita, F dan Trihartomo, D.** 2013. "Screening of Endophytic Fungi from Tubers of *Dahlia Variabilis*." *Journal of Agricultural Technology* 9(3):585-90.

- Lubna., Asaf, S., Hamayun, M., Khan, A. L., Waqas, M., Khan, M. A., Jan, R., Lee, I. J., & Hussain, A.** 2018. Salt tolerance of *Glycine max.* L induced by endophytic fungus *Aspergillus flavus* via regulating its endogenous hormones and antioxidative system. *Plant Physiology and Biochemistry.* 128: 13-23.
- Manganyi, M. C., Regnier, T., Kumar, A., Bezuidenhout, C. C., & Ateba, C. N.** 2018. Biodiversity and antibacterial screening of endophytic fungi isolated from *Pelargonium sidoides*. *South African Journal of Botany.* 116: 192-199.
- Putri, A. A. S., dan Hidajati, N.** 2015. Uji aktivitas antioksidan senyawa fenolik ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry.* 4 (1): 37-42
- Rollando., Notario, D., Aditya, M., dan Sitepu.** 2017. Kajian aktivitas antibakteri, antioksidan, dan sitotoksik fungi endofit genus *Fusarium* sp. daun meniran (*Pyllantus niruni* Linn). *Pharmaciana.* 7(1):95-104.
- Saryono.Hendris, S., Fitriyah, D., Jose, C., Nugroho, T. T. dan Ardhi, A.** 2015. “Antimicrobial Activity and Molecular Characterization of Endophytic Fungi Strain Isolated from Dahlia (*Dahlia variabilis*).” *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(9):201–8.
- Shinta, D. Y., Yusmarini., Sonata, H., Teruna, H. Y., dan Saryono.** The media variance of production for antimicrobe homogeny from the endophyte fungi of dahlia plant seed (*Dahlia variabilis*). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 7(9):239-245.
- Sawitri, N.** 2010. Pemanfaatan beberapa parameter produksi kitinase *Trichoderma asperellum* T.N.C52 dan T.N.J63 pada berbagai substrat kitin. *Skripsi.* FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.
- Zhang, Q, Zhang, J, Shen, J, Silva, A, Dennis, DA, & Barrow, CJ.** 2006. A simple 96-well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. *Journal of Applied Phycology,* 18 (3): 445-450.
- Zhao, J., T. Shan, Y. Mou, and L. Zhou.** 2011. “Plant-Derived Bioactive Compounds Produced by Endophytic Fungi.” *Mini Review in Medicinal Chemistry* 11(2): 59-68.