

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Biologi Asam Kojat dari Fermentasi Cair *Aspergillus Flavus* LS03

(Isolation, Characterization and Biological Activities Assay of Kojic Acid from Liquid Fermentation of *Aspergillus Flavus* LS03)

HANI MULYANI¹, RIZNA TD, MEGAWATI DAN SOFA FAJRIAH

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia – LIPI
Kawasan PUSPIPTEK Serpong, Tangerang Selatan, Banten 15314.

Diterima: 22 November 2019, Disetujui: 27 Maret 2020

Abstrak: *Aspergillus flavus* LS03 merupakan salah satu jenis jamur yang diisolasi dari tanah rhizosfer daerah Lombok Barat, yang menunjukkan potensi sebagai inhibitor α -glukosidase dan penangkap radikal bebas DPPH pada tahap awal screening aktivitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi metabolit sekunder sebagai antidiabetes dan antioksidan dari kapang *A. flavus* LS03 yang ditumbuhkan pada media cair kaldu kentang (PDB). Pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan berdasarkan penghambatan enzim α -glukosidase sedangkan antioksidan didasarkan pada kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Hasil pemisahan dan pemurnian diperoleh isolat aktif (1) yang diidentifikasi sebagai 5-Hidroksi-2-(hidroksimetil)-1,4-piran (asam kojat) berdasarkan data spektroskopi. Asam kojat (1) menunjukkan potensi kuat sebagai inhibitor enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 35,34 dan 149,9 $\mu\text{g/mL}$.

Kata kunci: *Aspergillus flavus* LS03, inhibitor α -glukosidase, antioksidan, asam kojat,

Abstract: *Aspergillus flavus* LS03 is a type of fungus isolated from rhizosphere soil in West Lombok, which showed potential as an α -glucosidase inhibitor and free radical scavenger in the early stages of screening activity. This study aimed to identify and characterize secondary metabolite as antidiabetic and antioxidants from *A. flavus* LS03 fungus grown on liquid medium of potato broth (PDB). The testing of antidiabetic activity is based on the inhibition of the α -glucosidase enzyme while the antioxidant is based on the ability to reduce DPPH free radicals. The result of separation and purification was obtained by active isolate (1) which was identified as 5-hydroxy-2- (hydroxymethyl) -1,4-piran (kojic acid) based on spectroscopic data. Kojic acid (1) shows strong potential as an α -glucosidase enzyme inhibitor and free radical DPPH with IC_{50} values of 35.34 and 149.9 $\mu\text{g / mL}$, respectively.

Keywords: *Aspergillus flavus* LS03, α -glucosidase inhibitor, antioxidant, kojic acid.

*Penulis korespondensi
E-mail: hmulyani@yahoo.com

PENDAHULUAN

PENYAKIT *degeneratif* adalah penyakit yang menyebabkan terjadinya kerusakan atau penghacuran terhadap jaringan atau organ tubuh, seperti penyakit jantung koroner, diabetes melitus, hipertensi, dan stroke. Jenis penyakit tersebut disebut juga *non communicable diseases* (NCDs) atau penyakit tidak menular. Proses dari kerusakan ini dapat disebabkan oleh penggunaan seiring dengan usia maupun karena gaya hidup yang tidak sehat. Di Indonesia, penyakit degeneratif mulai menjadi perhatian karena meningkatnya angka kejadian dan angka kematian. Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (IDF), Indonesia tercatat sebagai negara peringkat keenam dengan beban penyakit diabetes mellitus (DM)- type 2 terbanyak di dunia dengan lebih dari 10 juta penduduk menderita diabetes 2017. Angka ini dilaporkan kian meningkat seiring berjalannya waktu, terbukti dari laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang menunjukkan prevalensi diabetes mellitus pada penduduk dewasa Indonesia sebesar 6,9% di tahun 2013, dan melonjak pesat ke angka 8,5% di tahun 2018⁽¹⁾.

Hiperglikemia merupakan faktor utama dalam perkembangan penyakit diabetes, dan mendorong produksi radikal bebas reaktif yang pada akhirnya akan menyebabkan stress oksidatif dalam berbagai jaringan⁽²⁾. Peningkatan produksi radikal bebas dan pengurangan pertahanan antioksidan sebagian dapat memediasi inisiasi dan perkembangan komplikasi terkait diabetes⁽³⁾. Oleh karena itu, senyawa aktif yang mampu menghambat peningkatan kadar gula darah dan juga mampu meredam radikal bebas dapat bermanfaat bagi pasien diabetes, tidak hanya untuk mempertahankan kadar antioksidan dalam tubuh tetapi juga untuk mengobati komplikasi jangka panjang yang dapat timbul. Hal ini mendorong penelitian untuk mencari sumber bahan obat dari bahan alam, termasuk tanaman dan mikroorganisme⁽⁴⁾.

Kapang dalam genus *Aspergillus* (*Moniliaceae*) telah banyak dilaporkan sebagai penghasil senyawa bioaktif seperti lovastatin, *xanthone*, butirolakton, antrakuinon, poliketida, dan alkaloid, beberapa di antaranya memiliki beragam kegiatan biologis seperti antikolesterol, antibakteri, antioksidan dan antikanker^(5,6). Dalam rangka pencarian senyawa aktif antidiabetes dan antioksidan dari kapang *Aspergillus*⁽⁷⁾, kami melakukan penelitian terhadap kapang *Aspergillus flavus* LS03 yang diisolasi dari tanah rhizosfer di daerah Lombok pada tahun 2007. Pada tahap pengujian awal, skrining awal ekstrak *Aspergillus flavus* LS03 menunjukkan penghambatan kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH dengan aktivitas masing-masing sebesar 43,84 μ g/mL dan 67,36 μ g/mL.

Berdasarkan hasil tersebut kapang *A. flavus* LS03 memiliki potensi sebagai sumber baru senyawa menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut

untuk mengisolasi senyawa tersebut dan mengetahui faktor-faktor yang dapat mempengaruhi produksi senyawa aktif tersebut. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder yaitu faktor kimia (komposisi media kultur), faktor fisika (suhu, cahaya, kelembaban dan lain-lain), faktor genetik (genotipa sel), dan faktor stres lingkungan (logam berat, sinar UV)⁽⁸⁾. Oleh karena itu pada penelitian ini juga akan dilakukan kajian pengaruh media terhadap produksi senyawa aktif dari kapang *A. flavus* LS03 menggunakan media PDB (Potato Dextrose Broth), dan Potato Malt Peptone (PMP).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah kapang *A. flavus* LS03 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Media fermentasi PDB (*potato dextrose broth*), glukosa, PDA (*potato dextrose agar*), malt ekstrak, Pepton diperoleh dari Difco. Reagen pengujian yang digunakan antara lain α -glukosidase [(EC 3.2.1.20)] tipe I: dari *Saccharomyces cerevisiae* dan p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG) diperoleh dari Wako Pure Chemical Industries Ltd. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan Follin-Ciocalteu 2 N diperoleh dari Sigma.

Alat. *Biosafety cabinet* (LabTech -1503B-A2), *room incubator* (Mettler), autoklaf (SIBATA), neraca analitik, penguap vacuum berputar (Buchi), dan spectrometer Hitachi U2000. Alat identifikasi terdiri dari Spectrometer FTIR Shimadzu PRESTIGE 21, LCMS/MS Xevo G2-XS QTOF (Waters) dan spektroskopi NMR JNM ECA500 (JEOL).

METODE. Pemilihan media pertumbuhan kapang *A. flavus* LS03. Isolat *A. flavus* LS03 ditumbuhkan pada 2 media berbeda masing-masing 1000 mL yaitu dengan menggunakan (PDB), dan (PMP) dengan tujuan untuk mengetahui media fermentasi yang dapat meningkatkan produksi dan aktivitas antidiabetes dan antioksidan. Adapun komposisi nutrisi pada media yang digunakan:

1. PDB : PDB 2.4%
2. PMP : PDB 2.4% ditambahkan 1,0% malt ekstrak, dan 0,1% pepton)

Kaldu fermentasi yang telah disterilkan diinokulasikan dengan menambahkan isolat *A. flavus* LS03 yang sebelumnya ditumbuhkan pada media agar selama 7 hari pada suhu 30°C diinokulasikan secara aseptik menggunakan cok bor berdiameter 6 mm sebanyak tiga buah pada 50 ml media cair yang digunakan, kemudian diinkubasi selama 10 hari pada suhu kamar. Setelah masa inkubasi selesai, biomasa dan filtrat dipisahkan kemudian masing-masing diekstraksi dengan etil asetat, dan dikeringkan dengan rotari evaporator. Ekstrak kering yang diperoleh digunakan untuk pengujian aktivitas menghambat kerja enzim

α -glukosidase dan radikal bebas DPPH.

Ekstraksi dan Isolasi. Peningkatan skala fermentasi dari *A. flavus* LS03 dilakukan setelah diketahui media fermentasi yang menghasilkan aktifitas tertinggi menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH. Fermentasi dilakukan dengan skala 5 L. Ekstrak etil asetat yang diperoleh diuji aktivitas menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH. Ekstrak yang paling aktif menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH dimurnikan lebih lanjut sehingga diperoleh senyawa aktif.

Pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi kolom menggunakan silica gel G₆₀ (70-230 mesh) sebagai fase diam dengan eluen sistem peningkatan kepolaran. Eluat diidentifikasi dengan KLT. Eluat yang menunjukkan bercak tunggal pada KLT yang menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH diidentifikasi lebih lanjut untuk menentukan struktur kimianya berdasarkan identifikasi dengan metode analisis spektrofotometri UV-Vis, FTIR, NMR dan LC-MS.

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase. Pengukuran aktivitas dilakukan menurut metoda Kim *et al.*⁽⁹⁾. Larutan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida 5 mM sebanyak 250 μ L dan buffer fosfat pH 7,0 1M sebanyak 495 μ L ditambahkan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 μ L larutan contoh dalam DMSO dengan variasi konsentrasi 100; 50; 25; dan 10 μ g/mL. Setelah homogen larutan di preinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, reaksi dimulai dengan penambahan 250 μ L larutan α -glukosidase (0,063 unit), inkubasi dilanjutkan selama 15 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml Na₂CO₃ 0.2 M. Aktivitas enzim diukur berdasarkan pembacaan serapan *p*-nitrofenol yang terbentuk pada λ 400 nm. Kuersetin digunakan sebagai baku pembanding.

Presentasi aktivitas penghambatan diukur dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(C - S)}{C} \times 100$$

C = Absorban blanko (DMSO)

S = Absorban sampel (selisih absorban dengan dan tanpa enzim)

Pengujian Peredaman Radikal Bebas DPPH.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak terhadap radikal bebas DPPH diukur menurut metoda Yen & Chen⁽¹⁰⁾. Larutan ekstrak (10-200 μ g) dalam 4 mL metanol ditambahkan larutan 1 ml DPPH (1 mM dalam metanol). Campuran dikocok dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Persen inhibisi sampel

dihitung berdasarkan perbedaan serapan antara blanko dan sampel.

Presentasi aktivitas penghambatan diukur dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(C - S)}{C} \times 100$$

C = Absorban blanko (metanol)

S = Absorban sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan Media Optimum Kapang *A. flavus* LS03.

Pemilihan media cair yang sesuai akan mempengaruhi pertumbuhan kapang *A. flavus* LS03 yang pada akhirnya akan mempengaruhi sekresi metabolit sekunder yang diinginkan. Pada penelitian ini, dilakukan pemilihan media tumbuh yang sesuai untuk meningkatkan sekresi metabolit aktif, dengan mengkulturkan kapang *A. flavus* LS03 pada dua media yaitu PDB, dan PMP diinkubasi kondisi statis selama 10 hari pada suhu kamar. Setelah masa inkubasi selesai, biomasa dipisahkan dari filtrat, kemudian masing-masing keringkan dengan menggunakan evaporasi. Bobot ekstrak etil asetat dan aktivitas menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH dari setiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bobot ekstrak pada media PDB filtrat lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya, diduga penambahan sumber nitrogen tidak mempengaruhi bobot ekstrak dan konsentrasi metabolit yang disekresikan oleh *A. flavus* LS03. Aktivitas penghambatan α -glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH dari setiap ekstrak yang diperoleh diukur dengan metoda spektrometri. Pada Tabel 1 ekstrak etil asetat media PDB filtrat menunjukkan aktivitas kuat baik pada penghambatan enzim α -glukosidase maupun peredaman radikal bebas DPPH dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Media PDB filtrat merupakan media yang paling cocok untuk menghasilkan senyawa aktif penghambatan α -glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH. Ekstrak etil asetat PDB filtrat (ekstraseluler) memperlihatkan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase maupun peredaman radikal bebas DPPH menunjukkan aktifitas tertinggi dibanding dengan ekstrak biomasa (intraseluler), hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh kapang *A. flavus* LS03 tersebut terjadi secara ekstraseluler. Berdasarkan hasil tersebut media PDB filtrat merupakan media yang paling sesuai untuk pertumbuhan kapang *A. flavus* LS03, Selanjutnya dilakukan fermentasi dengan skala lebih besar untuk mengisolasi senyawa menghambat kerja enzim α -glukosidase dan radikal bebas DPPH dari kapang *A. flavus* LS03.

Tabel 1. Bobot ekstrak etil asetat *A.flavus* LS03 dan aktivitas antidiabetes dan antioksidan.

Media	Ekstrak	Bobot ekstrak	IC ₅₀ (µg/mL)	
		/1000 mL (g)	DPPH	α- Gis
PDB	B	0,43	314,29	149,90
	F	1,50	78,90	85,89
PMP	B	0,41	424,11	400,29
	F	0,52	138,94	229,95

Keterangan: B = biomasa; F = filtrat

Isolasi dan Pengujian Aktivitas Penghambatan α-glukosidase dan Peredaman Radikal Bebas DPPH. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, media PDB dipilih sebagai media yang paling sesuai dengan waktu fermentasi 10 hari menunjukkan aktivitas penghambatan α-glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH tertinggi. Berdasarkan hal tersebut, media ekstrak etil asetat PDB filtrat dipilih untuk penelitian lebih lanjut isolasi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang aktif sebagai menghambat kerja enzim α-glukosidase dan radikal bebas DPPH.

Tahapan penelitian lebih lanjut, dilakukan fermentasi dengan skala 5 L media PDB dan waktu fermentasi 10 hari, sehingga diperoleh ekstrak biomasa dan ekstrak filtrat yang mencukupi untuk penelitian lebih lanjut. Setelah masa inkubasi selesai, biomasa dipisahkan dari filtrat, kemudian masing-masing keringkan dengan menggunakan evaporasi. Media ekstrak etil asetat PDB filtrat dipilih untuk penelitian lebih lanjut isolasi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang aktif sebagai antidiabetes dan antioksidan dari kapang *A. flavus* LS03 dengan cara kromatografi. Ekstrak PDB filtrat yang dihasilkan berupa pasta berwarna coklat kehitaman yang bercampur dengan kristal, sehingga untuk memperoleh senyawa murni, pada ekstrak tersebut dilakukan reskristalisasi dari pelarut *n*-heksana dan metanol hingga diperoleh berupa kristal berwarna putih kekuningan berupa jarum tajam isolat (1) sebanyak 35 mg. Selanjutnya pada isolat (1) dilakukan uji aktivitas penghambatan α-glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH dan analisa spektrometri untuk mengidentifikasi struktur molekul dengan menggunakan instrumen spektrometer UV-Vis, FTIR, NMR dan LC-MS.

Hasil isolasi fermentasi ekstrak PDB filtrat menghasilkan isolat (1) yang mempunyai aktivitas penghambatan α-glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 2. Penelitian tentang metabolit yang dihasilkan *A. flavus* telah banyak dilaporkan menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai bioaktivitas menguntungkan. Isolat (1) mempunyai potensi penghambatan α-glukosidase dan peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 3 dengan nilai IC₅₀ masing-masing 35,34 dan

149,9 µg/mL.

Teknologi fermentasi merupakan upaya manusia dalam memanfaatkan bahan-bahan yang relatif murah bahkan kurang berharga menjadi produk yang bernilai ekonomi tinggi dan berguna bagi kesejahteraan hidup manusia. *A. flavus* bisa dimanfaatkan proses transformasi sel mikroba dapat digunakan untuk mengubah suatu senyawa menjadi senyawa lain yang masih memiliki kemiripan struktur namun memiliki nilai komersial yang lebih tinggi. Proses transformasi dengan menggunakan mikroba ini lebih baik dapat berlangsung pada suhu rendah tanpa menggunakan katalis logam berat bila dibandingkan dengan proses kimia. Berkaitan dengan penggunaan reagen kimia yang lebih sedikit produksi yang dihasilkan dan membutuhkan katalis logam berat yang berpotensi menimbulkan proses yang tidak ramah lingkungan.

Identifikasi Senyawa Aktif. Untuk menentukan struktur molekul senyawa murni isolat (1) dilakukan analisis spektrometri ultraviolet untuk mengetahui adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan FTIR untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional. Penentuan jumlah posisi proton dan karbon dilakukan dengan spektrometri resonansi magnetik inti proton (¹H-RMI) dan karbon 13 (¹³C-RMI), Spektrometri massa untuk mengetahui bobot molekul senyawa.

Isolat (1) dianalisis dengan spektrometer UV/Vis menunjukkan puncak absorpsi pada λ maksimum 215 nm dalam pelarut metanol yang menunjukkan adanya senyawa yang mengandung gugus karbonil yang berkonjugasi dengan gugus etilen⁽¹¹⁾. Identifikasi isolat (1) dengan spektrometri inframerah dilakukan untuk penentuan gugus fungsi. Data FTIR (Gambar 1) menunjukkan adanya gugus hidroksi (-OH) yang muncul pada bilangan gelombang ν 3360 cm⁻¹, gugus C-H alifatik pada ν 2926 cm⁻¹ (tajam), gugus keton ν 1616 cm⁻¹. Selain itu, gugus aromatik juga muncul pada ν 1105 cm⁻¹, 1074 cm⁻¹ dan 1053 cm⁻¹.

Untuk mengetahui jumlah proton dan karbon yang dimiliki isolat (1) maka dilakukan pengukuran dengan ¹H-RMI dan ¹³C-RMI. Berdasarkan hasil spektrometri magnet inti proton (¹H-RMI, CD₃OD, 500 MHz) pada Gambar 2 terlihat adanya dua buah proton singlet CH sp₂ pada pergeseran kimia pada δ_H 7,95 (1H, s, H-2) dan 6,49 (1H, s, H-3) ppm. Selain itu, gugus metilen

oksi ($\text{CH}_2\text{-OH}$) juga muncul pada pergeseran kimia δ_{H} 4.41 ppm (s, 2H, H-7).

Untuk pengukuran jumlah karbon, dilakukan

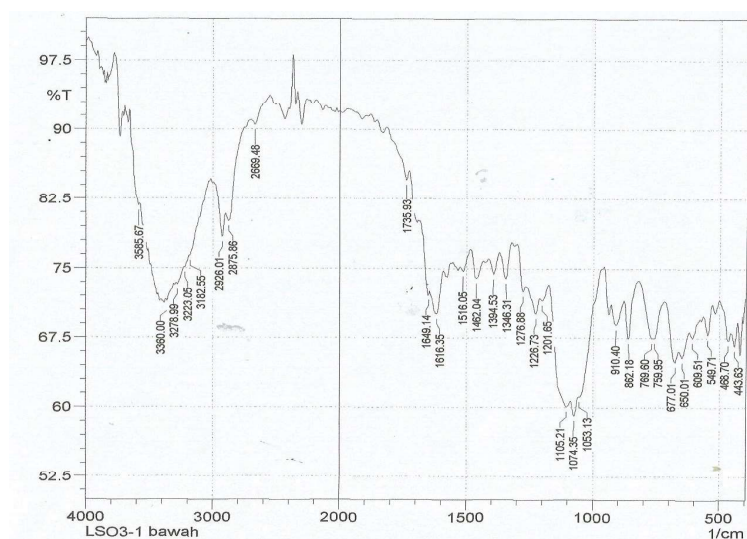
pengukuran dengan $^{13}\text{CNMR}$ yang ditunjukkan pada Gambar 3.

Tabel 2. Data bobot dan rendemen ekstrak kapang *A. flavus* LS03 media PDB.

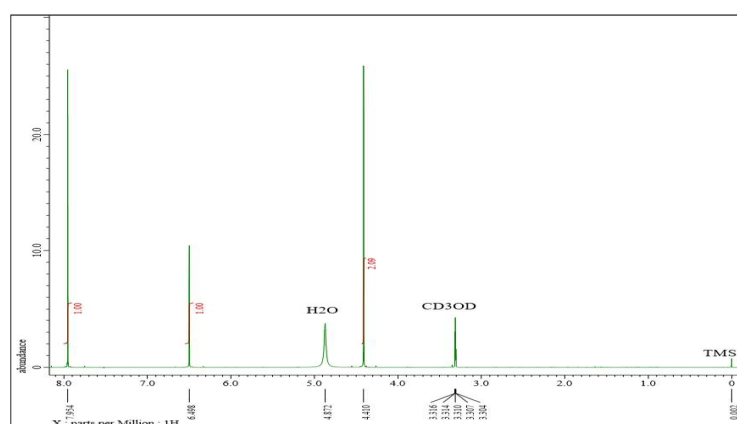
No	Sampel	Bobot sampel (g)	Rendemen (%)
1	Biomasa	2,2345	0,04
2	Filtrat	5,1243	0,10

Tabel 3. Bioaktivitas isolat (1).

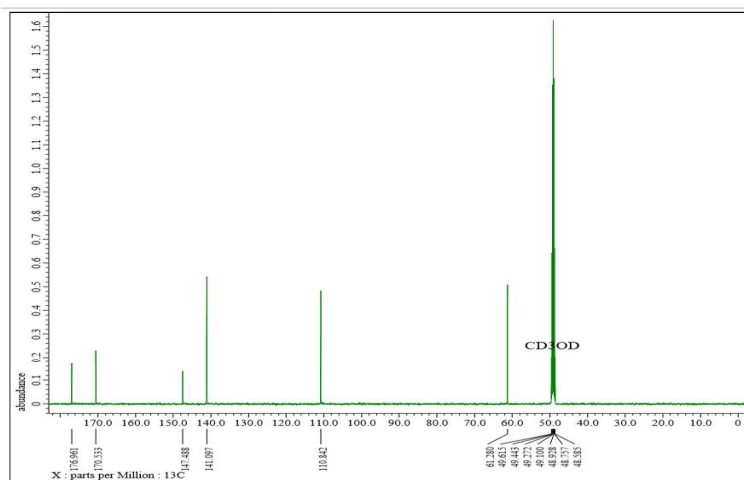
Sample	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	$\alpha\text{-GIs}$	DPPH
Asam Kojat	35,34	149,9



Gambar 1. Spektrum FTIR isolat (1).



Gambar 2. Spektrum $^1\text{HNMR}$ isolat (1) dalam CD_3OD .



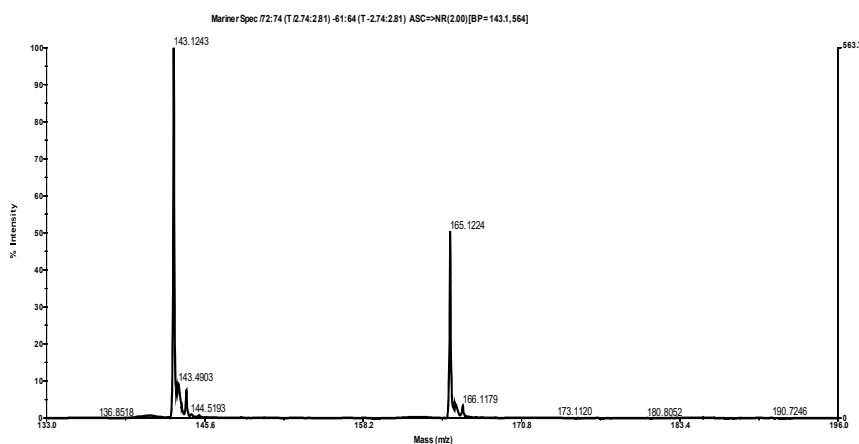
Gambar 3. Spektrum ^{13}C -NMR isolat (1) dalam CD_3OD .

Berdasarkan data ^{13}C -RMI (CD_3OD , 125 MHz), isolat **1** mempunyai 6 buah karbon, terdiri dari 2 buah karbon metin, 1 buah metilen, dan 3 buah karbon kuarterner. Dua buah CH sp_2 muncul pada pergeseran kimia δ_{C} 141,1 (C-6) dan 110,8 (C-3) ppm, 1 buah metilen oksid ($\text{CH}_2\text{-OH}$) muncul pada pergeseran kimia δ_{C} 61,3 ppm (C-7), dan 3 buah karbon kuarterner terlihat pada pergeseran kimia δ_{C} 147,5 (C-5), 170,5 (C-2), dan 176,9 (C-4). Gugus karbonil pada ester siklik muncul pada pergeseran kimia δ_{C} 176,9 ppm.

Penentuan bobot molekul dari isolat (**1**) dalam pelarut metanol dilakukan dengan spektrometer LC-MS, menghasilkan puncak tunggal pada waktu retensi 2,8 menit dapat dilihat pada Gambar 4. Berdasarkan hasil pengamatan dengan LC-MS menunjukkan bahwa senyawa isolat (**1**) dengan bobot molekul (m/z) 143,12 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, dengan demikian bahwa senyawa isolat (**1**) memiliki berat molekul sebesar 142,12.

Berdasarkan hasil analisis spektrometer UV/Vis, FTIR, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR, LC-MS dan perbandingan dengan literature⁽¹²⁾ isolat **1** merupakan senyawa 5-hidroksi-2-hidroksimetil-1,4-piron (asam kojat). Asam kojat sangat mudah larut dalam air, etanol, dan aseton; mudah larut dalam etil asetat, kloroform, dan piridin. Asam kojat membentuk kristal jarum prismatis dengan aseton, etanol, eter etil asetat dan metanol. Titik leburnya adalah 153-154 $^{\circ}\text{C}$ dan memiliki nilai pKa berkisar dari 7,90 hingga 8,03. Gambar 5 menunjukkan rumus bangun dari asam kojat.

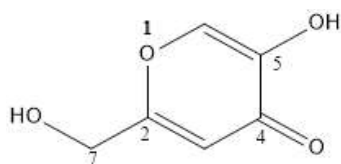
Asam kojat adalah metabolit sekunder yang banyak diproduksi oleh spesies jamur dari genus *Aspergillus* dan *Penicillium* melalui proses fermentasi dalam kondisi aerob. *A. flavus* merupakan salah satu jenis jamur yang tidak hanya sering mengkontaminasi makanan, juga bersifat patogen pada tumbuhan dan manusia. Jamur jenis ini dapat menyebabkan infeksi



Gambar 4. Hasil analisis LC-MS dari isolat (1).

Aspergillo dan juga merupakan jamur yang paling banyak menghasilkan aflatoxin akan tetapi kapang *A. flavus* menghasilkan metabolit sekunder yang berguna bagi manusia yaitu memiliki potensi yang paling besar dalam memproduksi asam kojat dibandingkan dengan spesies *Aspergillus* lain⁽¹³⁾.

Asam kojat dalam dunia kedokteran sebagai penghilang rasa sakit dan antiinflamasi, sedangkan dalam industri makanan, asam kojat digunakan sebagai prekursor untuk penguat rasa, pengawet, dan antioksidan yang dapat meningkatkan stabilitas lemak dan minyak⁽¹⁴⁾. Penggunaan asam kojat yang paling banyak ditemui adalah dalam bidang kosmetik, yaitu sebagai pemutih dan pelindung terhadap radiasi sinar UV⁽¹⁵⁾.



Gambar 5. Struktur asam kojat.

Hasil uji terhadap enzim α -glukosidase dan antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa asam kojat mempunyai potensi sebagai inhibitor α -glukosidase dan penangkap radikal bebas dengan IC_{50} masing-masing sebesar 35,34 dan 149,9 μ g/mL. Mekanisme kerja asam kojat didefinisikan dengan baik dan telah terbukti bertindak sebagai inhibitor kompetitif dan reversibel dari hewan dan tumbuhan polifenol oksidase, xanthine oksidase, dan beberapa asam oksida-amin⁽¹⁴⁾. Asam kojat mengandung senyawa-senyawa fenolik umumnya menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan, terutama senyawa yang memiliki gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR⁽¹⁶⁾.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, asam kojat dari kapang *A. flavus* LS03, berpotensi sebagai antidiabetes dengan aktivitas sebagai penghambat α -glukosidase dan juga mampu meredam radikal bebas. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui mekanisme lebih lanjut dari senyawa ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Balitbangkes. Hasil utama Risetdas 2018-Kementrian Kesehatan. Diambil dari www.kemkes.go.id/re-sources>download>infoterkini. Diakses 23 Maret 2020.
- Ramkumar, K.H., Thayumanavan, B., Palvannan, T., Rajaguru, P. Inhibitory effect of *Gymnema montanum* leaves on α -glucosidase activity and α -amylase activity and their relationship with polyphenolic content. *Med. Chem. Res.*, 19, 948-96, 2009
- Yao Y, Sang W, Zhou M, Ren G. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China. *J. Agric. Food Chem.* 2010. 58: 770-4.
- Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S., Yum, S.S. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory properties of *Carpesium abrotanoides* L. *J. Medic. Plant Res.* 2010. 4(15), 1547-53.
- Al-Fakih AA, Almaqtri WQA. Overview on antibacterial metabolites from terrestrial *Aspergillus* spp. *Mycology.* 2019. 10(4):191-209.
- Dewi RT, Tachibana S, Darmawan A. Antidiabetic and antioxidative activities of butyrolactone I from *Aspergillus terreus* MC751. *World Academy, Science Engineering Technology.* 2012. 70:882-7.
- Balajee SA. *Aspergillus terreus* complex. *Medical Mycology.* 2009. 47: 542-6.
- Mariska I. Metabolit Sekunder: Jalur pembentukan dan kegunaannya. Badan Litbang Bioteknologi & Sumberdaya Genetik Pertanian.[serial online]. Diambil dan URL:<http://biogen.litbang.pertanian.go.id>, 2013. Diakses 28 November 2017.
- Kim YM, Wang MH, and Rhee HI. A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydr Res.* 2004. 339: 715-7.
- Yen GC, Chang YC, Sheu F, and Chiang HC. Isolation and characterization of antioxidants compound from *Aspergillus candidus* broth filtrate. *J. Agri Food Chem.* 2001. 49: 1426-31.
- Kosela S. Cara mudah dan sederhana penentuan struktur molekul berdasarkan *spectra data* (NMR, MASS, IR, UV). Lembaga penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia: 2010. h. 200-1.
- Li Y, Teng Z, Parkin KL, Wang Q, Zhang Q, Luo W, Luo W, Ma D, Zhao M. Identification of bioactive metabolites dihydroconadensolid, kojic acid, and vanillic acid in soy sauce using GC-MS, NMR spectroscopy, and single-crystal X-ray diffraction. *J. agric. Food Chem.* 2014. 62 (33):8392-801.
- Sulistyaningrum LS, Optimasi asam kojat oleh galur mutan *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10. Tesis sarjana Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok. 2008. h. 40-1.
- Burdock GA, Soni, Carabin. Evaluation of health aspect of kojic Acid in food. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 2001. 33(1):80-101.
- Ohyama Y and Mishima Y. Melanogenesis - inhibitory effect of kojic acid and its action mechanism. *Fragrance Journal* 1990. 6:53-8.
- Chandra S and Dave R. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An Overview. *Afr. J. Microbiol Res.* 2009. 3(13): 981-96.