

## Free Antiradical Activity Test of Endophytic Fungi Isolates of Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* (L) Leaves from Galesong Takalar with KLT-Autography Method

Dewi Mustika Sari<sup>1</sup>, Rachmat Kosman<sup>1</sup>, Rusli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia.

<b>Article info</b> Received: 25/07/2023	<b>ABSTRACT</b>
<b>Available online:31/03/2024</b>	<i>The kasumba turate plant (<i>Carthamus tinctorius</i> (L.) has the potential as a free antiradical. Free antiradical compounds in kasumba turate plants come from secondary metabolites produced by endophytic compounds known as endophytic fungi. Kasumba turate contains phenolic compounds and carotenoids that have antioxidant activity. This study aims to obtain isolates of endophytic fungi in kasumba turate (<i>Carthamus tinctorius</i> (L.) plants that can act as free antiradicals by KLT-Autography method. Five isolates IFDK 01, IFDK 02, IFDK 03, IFDK 04, and IFDK 05 were obtained. After testing the antioxidant activity of endophytic fungal isolates, two isolates were obtained that gave the best antioxidant activity, namely isolates IFDK 03 and IFDK 04. The results of KLT-Autography testing by spraying DPPH isolates IFDK 03 and IFDK 04 have the potential as free antiradicals showing yellow spots on a purple background having an Rf1 value, IFDK 03 isolate 0.94 and Rf2 0.55 and Rf1 value, IFDK 04 isolate 0.76 and Rf2 0.43</i>
<b>Corresponding Author:</b> Rusli Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: <a href="mailto:rusli@umi.ac.id">rusli@umi.ac.id</a>	<b>Keyword:</b> Endophytic fungi, Free antiradical, Kasumba Turate ( <i>Carthamus tinctorius</i> L.), KLT-Autography



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

### PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan sehingga bertabiat sangat reaktif serta tidak normal. Ketidakstabilan hendak menangkap elektron lain yang terdapat di sekelilingnya buat memantapkan wujudnya<sup>1</sup>. Radikal bebas menggambarkan aspek faktor terjadinya berbagai macam penyakit dalam badan manusia. Kehancuran pada sel serta jaringan yang sumber dari sebagian besar penyakit disebabkan oleh radikal bebas.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralsir radikal bebas dalam badan manusia sehingga kehancuran sel bisa dicegah<sup>2</sup>.

Fungi endofit adalah organisme pervasif yang terdapat pada tanaman yang hidup secara interseluler atau intraseluler, tanpa menyebabkan gejala penyakit. Hampir semua tanaman alami diketahui memelihara endofit. Fungi endofit dipelajari secara luas potensinya untuk menjaga kesehatan tanaman dan pertahanan terhadap banyak penyakit<sup>3</sup>. Endofit

menghasilkan metabolit pelindung yang sebenarnya menginduksi ketahanan tanaman inang terhadap cekaman biotik dan abiotik, meningkatkan pertumbuhannya dan secara tidak langsung meningkatkan produksinya<sup>4</sup>. mikroba endofit dapat mensintesis senyawa bioaktif berukuran serupa dengan yang diproduksi oleh inangnya karena adanya pertukaran informasi genetik secara evolusioner<sup>5</sup>. Semakin banyak penelitian yang mengeksplorasi jamur endofit dari tanaman inang, mengungkap tubuh kaya metabolit dengan berbagai aktivitas biologis (antikanker, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan)<sup>6</sup>.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Antioksidan diyakini berperan penting dalam perlindungan sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Peran antioksidan juga dapat mencegah oksidasi dan dapat melindungi tubuh<sup>7</sup>. Antioksidan dapat mencegah oksidasi radikal bebas. Radikal bebas dalam jumlah berlebih membuat tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh atau antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dapat berupa antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan alami saat ini semakin berkembang sebagai sarana pemanfaatan bahan alam dan dinilai lebih terjangkau. Antioksidan dari bahan alami

memiliki kandungan seperti vitamin C, vitamin E, pro vitamin A,  $\alpha$ -tocopherol, flavonoid, dan fenolik<sup>8</sup>.

Tanaman obat semakin banyak digunakan sebagai obat, salah satu tanaman obat tersebut adalah daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.). Hasil penelitian sebelumnya tentang daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) memiliki kemampuan sebagai antioksidan, maka pada daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) dapat dimanfaatkan untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Kasumba turate mengandung senyawa terpenoid dan dapat digunakan sebagai obat cacar air bagi suku Bugis Makassar. Kasumba turate mengandung senyawa fenolik flavonoid dan karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker. Kasumba turate mengandung kartamin, polifenol dan derivat serotonin yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Oleh karena itu, tanaman ini dapat dijadikan salah satu sumber antioksidan alami<sup>9</sup>.

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian isolasi fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) sebagai antioksidan secara KLT-Autografi.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan yang digunakan**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas, oven

(Memmert), autoklaf (SMIC model YX-280 B), laminar air flow (LAF), rotary shaker, inkubator (Memmert), cawan Petri (Normax), lampu spiritus, lampu UV 254 dan 366 nm (Philips), pipa kapiler, vial.

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.), medium Potato Dextrose Agar (PDA), Maltosa Yeast Broth (MYB), kloramfenikol, metanol, aquadest, etanol 70%, larutan NaCl 0,9%, lempeng KLT, etil asetat, kloroform, (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) DPPH.

#### **Pengambilan dan penyiapan sampel**

Sampel daun Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) dicuci dengan air mengalir terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan desinfeksi permukaan sampel dengan cara direndam sampel dalam alkohol 70% selama 2 menit, kemudian dibilas menggunakan aquadest steril sebanyak 3 kali<sup>10</sup>.

#### **Isolasi dan pemurnian kultur fungi endofit**

Sampel daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) dalam kondisi segar dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih, kemudian dipotong dengan ukuran kecil dan disterilkan dengan alkohol 70% kemudian dibilas dengan aquadest steril kurang lebih satu menit dan diletakkan pada permukaan medium PDAC (Potato Dextrose Agar ditambah kloramfenikol). Setelah itu diinkubasi selama tiga hari pada suhu ruangan<sup>11</sup>. Pemurnian dilakukan dengan memindahkan isolat yang tumbuh

pada cawan petri baru berisi medium PDA menggunakan jarum ose, kemudian diinkubasi selama 3 – 5 hari pada suhu ruangan. Pemurnian dilakukan sampai diperoleh isolat fungi murni yang tunggal<sup>12</sup>.

#### **Pemeriksaan makroskopik**

Koloni isolat fungi endofit murni yang tumbuh dapat diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopik. Pengamatan makroskopik isolat dilakukan dengan mengamati bentuk koloni, pinggiran/tepi koloni, elevasi, warna dan struktur dalam koloni yang tumbuh<sup>13</sup>.

#### **Uji skrining fungi endofit**

Pada Stok murni isolat fungi diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi medium MYB, kemudian di shaker pada kecepatan 200 rpm selama 7 hari. Hasil fermentasi isolat fungi endofit dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Untuk menguji aktivitas antiradikal bebas, hasil fermentasi dalam tabung reaksi ditambahkan DPPH 0,004% sebanyak 200 µL. Senyawa aktif sebagai penangkal radikal bebas akan memberikan perubahan warna menjadi warna kuning atau coklat.

#### **Produksi dan ekstraksi sampel fungi endofit**

Diambil potongan medium PDA yang berisi isolat aktif yang berukuran kurang lebih 1 cm menggunakan ose dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 1000 mL medium MYB. Selanjutnya dilakukan fermentasi menggunakan rotary

shaker 200 rpm (putaran/menit) pada suhu ruangan selama 14 hari<sup>14</sup>. Hasil fermentasi disaring menggunakan kertas saring lalu diambil supernatannya dan diekstraksi menggunakan etil asetat. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental<sup>15</sup>.

#### **Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Setelah didapatkan ekstrak kental fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) selanjutnya dilakukan identifikasi dengan KLT menggunakan campuran eluen kloroform : metanol (9:1). Kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm menggunakan pipa kapiler. Kemudian dielusi menggunakan eluen dan dimasukkan kedalam chamber. Lempeng kemudian dikeluarkan dari chamber lalu diangin-anginkan. Kromatogram yang dihasilkan selanjutnya diamati bercaknya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm diberi tanda dan dihitung nilai Rfnya.

#### **Pengujian dengan pereaksi DPPH**

Hasil pengujian KLT dengan eluen yang paling bagus hasilnya kemudian dilanjutkan dengan uji 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dengan cara pelat KLT disemprot dengan DPPH 0,004% dalam methanol, Kemudian diamati bercak yang memberikan aktivitas antioksidan penghambat terhadap antiradikal bebas. Senyawa aktif sebagai penangkal radikal

bebas akan memberikan bercak kuning berlatar ungu setelah disimpan selama 30 menit<sup>16</sup>.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) merupakan salah satu herbal bahan alam yang digunakan dalam pengobatan, Salah satu senyawa yang terkandung di dalam kasumba turate adalah flavonoid<sup>17</sup>. Dimana flavonoid merupakan senyawa yang diketahui memiliki sifat antioksidan dengan mekanisme kerja menangkal senyawa atau molekul radikal bebas dalam jumlah berlebih yang dapat memicu efek patologis. Mekanisme pertahanan alami tubuh akan menangkal radikal bebas yang terbentuk dengan menghasilkan senyawa yang dapat menangkalnya, salah satunya antioksidan. Oleh karena itu, kemampuan antioksidan dan peroksidasi lipid yang secara alami ada dalam tubuh sangat penting untuk melindungi tubuh dari paparan berbagai penyakit akibat peningkatan radikal bebas. Fungsi antioksidan adalah menetralkan senyawa radikal bebas dan mencegah terbentuknya reaksi berantai<sup>18</sup>. Kemudian, dilakukan pemeriksaan secara makroskopik meliputi permukaan koloni, bentuk koloni, tepi, warna dan sudut evalensinya<sup>19</sup>.

**Tabel 1.** Hasil uji makroskopik isolat daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.)

Gambar Isolat	Kode Isolat	Warna koloni	Bentuk koloni	Bentuk Tepi	Bentuk Elevasi
	IFDK 1	Putih, cream, hijau	L-Form	Smooth	Raised
	IFDK 2	Cream, hitam, putih	L-Form	Smooth	Flat
	IFDK 3	Cream, hijau	L-Form	Branching	Hilly
	IFDK 4	Orens, coklat, hijau, putih	L-Form	Wavy	Hilly
	IFDK 5	Cream, putih	Round	Smooth	Raised

**Tabel 2.** Hasil uji skrining isolat fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.)

Kode Isolat	Kode Isolat Fungi Endofit	Jumlah DPPH / $\mu$ L	Hasil
01	IFDK 01	500	Putih Kekuningan
02	IFDK 02	500	Putih Kekuningan
03	IFDK 03	500	Kuning
04	IFDK 04	500	Kuning
05	IFDK 05	500	Putih Kekuningan

Pada tabel 1, menunjukkan bahwa isolat IFDK1 memiliki bentuk koloni L-Form (bentuk L), bentuk tepinya smooth (licin), bentuk elevasinya raised (timbul datar). isolat IFDK2 memiliki bentuk koloni L-Form (bentuk L), bentuk tepinya smooth (licin), bentuk elevasinya flat (datar). isolat IFDK3 memiliki bentuk koloni L-Form (bentuk L), bentuk tepinya branching (bercabang), bentuk elevasinya hilly (berbukit-bukit).

isolat IFDK4 memiliki bentuk koloni L-Form (bentuk L), bentuk tepinya wavy (bergelombang), bentuk elevasinya hilly (berbukit-bukit). isolat IFDK5 memiliki bentuk koloni round (bulat), bentuk tepinya smooth (licin), bentuk elevasinya raised (timbul datar). Setelah pengamatan makroskopik dilakukan dilanjutkan dengan uji skrining fungi endofit. Hasil uji skrining fungi endofit daun kasumba turate

**Tabel 3.** Antiradikal ekstrak fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara KLT-Autografi dengan metode DPPH dengan eluen kloroform : metanol (9:1)

Kode Isolat	Nilai Rf <sub>1</sub>	Nilai Rf <sub>2</sub>	Warna	
			UV 254 nm	UV 366 nm
<b>IFDK 3</b>	0,94	0,55	Hijau	Biru
<b>IFDK 4</b>	0,76	0,43	Hijau	Biru

(*Carthamus tinctorius* L.) dapat dilihat pada tabel 2

Pada tabel 2, Berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji skrining fungi endofit dari daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) terhadap Hasil uji skrining aktivitas antiradikal bebas menggunakan DPPH sebagai pereaksi uji. Pereaksi uji yang digunakan ialah DPPH karena lebih memudahkan dalam mengamati hasil pengujiannya. Uji skrining bertujuan untuk melihat seberapa besar kemampuan fungi endofit dalam menghambat radikal bebas dengan cara mengamati zona bening pada daerah sekitar isolat yang telah ditanam pada medium. Setelah melakukan uji skrining aktivitas antiradikal yang dimana didapatkan 2 isolat dengan daya hambat yang tinggi yaitu pada isolat IFDK 3 dan IFDK 4. Isolat fungi murni yang telah diperoleh yang merupakan isolat paling aktif dengan daya hambat yang tinggi yaitu IFDK 03 dan IFDK 04.

Ekstrak fungi endofit dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antiradikal bebas daun Kasumba Turate (*Carthamus*

*tinctorius* L.) secara KLT-Autografi dengan metode DPPH untuk mengetahui senyawa kimia yang memberi aktivitas antiradikal dari ekstrak fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.). Eluen yang digunakan adalah kloroform dan metanol dengan perbandingan (9:1).

Hasil dari uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara KLT-Autografi dengan pereaksi DPPH dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan pada tabel 3 Aktivitas antiradikal bebas daun Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara KLT-Autografi dengan metode DPPH menggunakan pereaksi semprot DPPH 0.004% yang ditandai dengan adanya bercak noda berwarna kuning pada kromatogram, metode ini digunakan karena menggunakan jumlah sampel yang sedikit sudah mampu memperlihatkan aktivitasnya serta dapat langsung melokalisir senyawa yang memberikan aktivitas antiradikal bebas sehingga memudahkan dalam proses isolasi atau pemisahan senyawa aktif dari

senyawa-senyawa lainnya. Berdasarkan uji KLT-Autografi yang dilakukan diperoleh 4 bercak dengan nilai Rf1 pada isolat IFDK 03 yaitu 0,94 dan Rf2 yaitu 0,55 sedangkan pada IFDK 04 Rf1 yaitu 0,76 dan Rf2 yaitu 0,43 yang memiliki aktivitas sebagai antiradikal bebas. Hal ini ditunjukkan dengan warna bercak berwarna kuning sedangkan latarnya berwarna ungu. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan secara KLT-Autografi dengan metode DPPH diatas diperoleh hasil ekstrak fungi endofit daun kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) memiliki potensi menghambat antiradikal bebas.

#### KESIMPULAN

Daun Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) menghasilkan 5 isolat fungi endofit, dan dari ke-5 isolat ini, terdapat 2 isolat yang berfungsi sebagai antiradikal yaitu IFDK 03 dan IFDK 04. Profil autogram aktivitas antiradikal bebas isolat fungi endofit daun Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) diperoleh 2 isolat yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik yaitu kode IFDK 03 dengan Rf1; 0,94 dan Rf2 ; 0,55 sedangkan untuk Isolat kode IFDK 04 dengan Rf1 ; 0,76 dan Rf2 ; 0,43.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kurnia, N.H., & Taufikurohmah, T. Pengaruh Penambahan Nanosilver Terhadap Aktivitas Antioksidan Nanogold dalam Meredam Radikal Bebas. *Journal of Chemistry*. 2017;6(3):161-165.

2. Pramiastuti, & Oktariani. Isolasi Dan Identifikasi Pinostrobin Dan Pinocebrin Dari Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia pandurata* (Roxb). (Schlecht) Serta Uji Aktivitas Antioksidannya. Yogyakarta: Universitas Gadjahmada Press. 2016.
3. Latz, M.A., Jensen, B., Collinge, D.B., & Jorgensen, H.J., Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecolog. Divers.* 2018;11:555–567.
4. Yan, L., Zhu, J., Zhao, X., Shi, J., Jiang, C., & Shao, D., Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019;103:3327–3340.
5. Gouda, S., Das, G., Sen, S.K., Shin, H.S., & Patra, J.K., Endophytes: A treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Front. Microbiol.* 2016;7:1538.
6. Caicedo, N.H., Davalos, A.F., Caicedo, P.A., Puente, P.A., & Rodríguez, A.Y., Antioxidant activity of exo - metabolites produced by *Fusarium oxysporum*: an endophytic fungus isolated from leaves of *Otoba gracilipes*. *Microbiol. Open.* 2019;8:1–7.
7. Omodamiro O.D & Ikekamma O.C. In vitro Study of Antioxidant and Anticoagulant Activities of Ethanol Extract of *Pandanus tectorius* Leaves. *International Blood Research & Reviews.* 2016;5(1):1-11.
8. Khani, M., Motamedi, P., Dehkhoda, M.R., Nikhukheslat, S.D. & Karimi, P. Effect of Thyme Extract Supplementation on Lipid Peroxidation, Antioxidant Capacity, PGC-1 $\alpha$  Content and Endurance Exercise Performance in Rats. *Journal of the International Soc.* 2017
9. Hamsidi, R. Widyawaruyanti, A. Hafid, A.F., Ekasari, W., Malaka, M.H.,

- Kasmawati, H., Akib, N.I., Wahyuni, & Sabaruddin. Profil Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) yang Berpotensi Sebagai Antimalaria. Jurnal Farmasi. 2018
10. Reckow, V., Widayat, W., & Rijai, L. "Jamur Endofit dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)." Proceeding of the 4th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. the 4th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, Laboratorium Pene. 2016.
11. Bayracki Mevlut., Mukaddes Keskinates., Bahar Yilmaz. Antibacterial, Thermal Decomposition and In Vitro Time Release Studies of Chloramphenicol From Novel PLA and PVA Nanofiber Mats, Faculty of Engineering, Karamanoglu Mehmetbey University. 2021.
12. Fitriana, Abdullah AS, & Achmar A. Profil bioautogram ekstrak fermentat isolat fungi endofit dari daun galing-galing (*Cayratia tiffolia*) sebagai antibakteri. As-Syifaa Jurnal Farmasi. 2019;11(1):17-21.
13. Wahyuni S, Herwin, & Kosman R. Isolation and activity antibacterial of isolates endophyte fungi of *Jatropha multifida* L. Stem. Journal Microbiology Science. 2021;1(1):1-9.
14. Ramadhani, MF. "Potensi Fungi Endofit Bunga Asoka (*Ixora coccinea* L.) Sebagai Penghasil Antibakteri." S.Farm Skripsi , Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. 2017
15. Siradjuddin, M. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fermentat Isolat Fungi Endofit dari Buah Dengen (*Dillenia serrate* Thunb.). S.Farm Skripsi , Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. 2018.
16. Naim., N.K., Herwin, Fitriana & Nurung, A. H. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fermentat Isolat Fungi Endofit Biji Buah Kenari (*Canarium indicum* L.) Secara KLT-Autografi. As-Syifaa. 2021;13(2).
17. Tahar Nurshalati., Fais Satrianegara., Rusmadi Rukmana, Nursalam Hamzah., Sitti Rukmana., Fitria Alwi., Abdul Roni., & Mukhriani. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Total Fitokimia dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.). Jurnal Farmasi Indonesia. 2023;15(1).
18. Selawa W., Runtuwene M. R. J., Citraningtyas G. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Pharmacon. 2017;2(1):18-22.
19. Asnita, Rachmat Kosman, Herwin, Ayyub Harly Nurung. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Batang Sesuru (*Euphorbia antiquorum* L.) Sebagai Penghasil Antibakteri dengan Metode KLT-Bioautografi. As-Syifaa Jurnal Farmasi. 2020;12(2): 144-149.