

Antioxidant Activity Analysis of Endophytic Fungal Isolates IFBZ5, IFBZ6, and IFBZ7 from the Stem of Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Fitriana^{1*}, Masdiana Tahir², Aulia Nurul Insani Hamdhan¹, Farah Hikmah Nur Sumardi¹, Adinda Putri¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

²Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info

Received: 29/06/2024

Available online: 17/04/2025

Corresponding Author:

Fitriana

Department of Microbiology
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar,
South Sulawesi, Indonesia
email: fitriana.fitriana@umi.ac.id

ABSTRACT

Endophytic fungal isolates coded IFBZ5, IFBZ6, and IFBZ7 derived from the stem of the bidara plant (*Ziziphus mauritiana* Lam.) have shown potential antioxidant properties. This study aims to test the antioxidant activity of endophytic fungal isolates on the bidara plant stem (*Ziziphus mauritiana* Lam.) by TLC-Autography method and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) free radical silencing. This study used endophytic fungi isolates code IFBZ-5, IFBZ-6 and IFBZ-7 which were fermented for 21 days using MYB medium which was then liquid-liquid extracted with ethyl acetate (1:1) and evaporated. The fermentate extract obtained was then tested for antioxidant activity qualitatively and quantitatively. Qualitative analysis using TLC plates indicated antioxidant activity in all isolates. Quantitative analysis showed that isolate IFBZ7 exhibited strong antioxidant activity with an IC50 value of 50.120 ppm, while IFBZ5 and IFBZ6 showed very weak activity with IC50 values of 2.482.363 µg/mL and 467.847 µg/mL, respectively. The BHT comparator had an IC50 value of 6.778 µg/mL. This shows that the antioxidant power of endophytic fungal isolates coded IFBZ5, IFBZ6 and IFBZ7 is lower than the antioxidant activity of BHT as a comparison.

Keyword:

Antioxidant, DPPH, Endophytic fungi, TLC-Autography, dan *Ziziphus mauritiana* Lam..



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

Fungi endofit merupakan jamur yang tumbuh dan mengkolonisasi di jaringan tumbuhan (inang) terutama di bagian akar, batang dan daun. Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini diduga karena jamur endofit mengalami transfer genetik yang sama dari inangnya. mikroba endofit memiliki potensi besar untuk dikembangkan

menjadi obat herbal, Karena mikroba endofit dapat ditumbuhkan dengan mudah, memiliki siklus hidup yang pendek, dan dapat menghasilkan sejumlah besar senyawa bioaktif melalui fermentasi¹.

Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan sebagai sumber isolat jamur endofit adalah batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) tanaman ini banyak digunakan di Indonesia sebagai obat tradisional¹. Berdasarkan penelitian yang

telah dilakukan oleh Nandang Safrudin (2018) menunjukkan bahwa tanaman bidara mempunyai kandungan senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid dan tanin². Tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) merupakan obat tradisional yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti gangguan pencernaan, kelemahan, keluhan hati, obesitas, masalah kemih, diabetes, infeksi kulit, hilang nafsu makan, diare, demam, insomnia, penenang, kanker, serta memiliki aktivitas sebagai antioksidan³.

Antioksidan merupakan zat yang menghambat atau menunda reaksi oksidasi karena besaran relative konsentrasi antioksidan dan substrat yang dapat teroksidasi secara signifikan menunda atau mencegah oksidasi substrat⁴. Antioksidan memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan radikal bebas pada sel normal, protein, dan lemak. Ini dilakukan dengan melengkapi kekurangan elektron radikal bebas sehingga menyebabkan senyawa radikal bebas stabil dan mencegah terjadinya reaksi berantai yang berasal dari pembentukan radikal bebas⁵.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Khusnul Annisa (2023) dan diperoleh 10 isolat fungi endofit akar, 20 isolat batang dan 14 isolat daun. Berdasarkan hasil uji skrining antibakteri didapatkan isolat dengan zona hambat terbesar yaitu isolat dengan kode IFAZ-6,

IFBZ-6 dan IFDZ-8 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri⁶.

Berdasarkan uraian tersebut adalah dua hal yang berbeda antara aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidan tetapi jika dilihat dari tanamannya memiliki metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas antioksidan sehingga metabolit yang dikeluarkan oleh fungi endofit dapat juga memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan serta dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh fungi endofit yang dihasilkan dari isolat fungi endofit batang tanaman bidara. Selain antioksidan, metabolit yang dimiliki oleh tanaman bidara salah satunya senyawa antibakteri yang telah diketahui potensi antibakteri dari beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Khusnul Annisa (2023). Jadi, pentingnya penelitian ini adalah mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan dengan cara melihat parameter yang biasa digunakan yaitu nilai IC₅₀.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri (Normax), shaker (IKA KS 4000i), fermentor (Model : INFORS AG CH-4103 BOTTMINGEN), lempeng KLT G60 F254 (E.Merck), spektrofotometri UV-Vis (tipe Evolution 201). Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah isolat fungi endofit kode IFBZ-5, IFBZ-6 dan IFBZ-7 dari batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.),

medium Maltosa Yeast Broth (MYB) yaitu Maltosa Monohidrat (*Merck, 1.05910.0500*); Yeast extract granulated (*Merck, 1.03753.0500*); Pepton aus Casein (*Merck, 1.07213.1000*); D(+)-Glucose monohydrate (*Merck, 1.08342.1000*), medium Potato Desxtrose Agar (PDA) (*Merck, 1.10130.0500*), Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) (*Merck, 2641431*), Butilated Hydroxytoluene (BHT) (*Merck, 8.22021.0100*), reagen Dragendorff (*Merck, 1.02035.0100*), reagen Lieberman-Burchard yaitu asam sulfat (*Merck, 1.90731.2500*) dan asam asetat anhidrat (*Merck, 1.00042.2500*), pereaksi FeCl₃ (*Merck, 1.03943.0250*), pereaksi HCl 1 N (*Indoreagen, 0130544-B*), pereaksi AlCl₃ (*Merck 8.01081.0500*) dan etil asetat (*Merck, 1.09263.1000*).

Pemurnian Isolat Fungi Endofit

Serbuk Isolat fungi endofit kode IFBZ-5, IFBZ-6 dan IFBZ-7 diambil dengan menggunakan kawat ose dan dipindahkan pada medium Potato Dextrosa Agar (PDA) baru untuk ditumbuhkan kembali dengan cara menggoreskan kawat ose pada jamur lalu ditusukkan di tengah-tengah medium baru. Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 3 x 24 jam⁷. Setelah diperoleh hasil pemurnian, selanjutnya dilakukan pemeriksaan makroskopik, hasil makroskopik ini akan dibandingkan dari data sebelumnya hasil penelitian khusus Annisa (2023)⁶.

Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Pembuatan starter isolat untuk isolasi fungi endofit kode IFBZ-5, IFBZ-6, dan IFBZ-7, masing-masing isolat dimasukkan ke dalam 20 mL medium produksi yaitu Maltosa Yeast Broth (MYB). Kemudian diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu kamar (kultur starter)⁸. Setelah dilakukan starter isolate fungi endofit diinkubasi, masing-masing isolat dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 1000 mL yang berisi 500 mL medium Maltosa Yeast Broth (MYB). Selama 21 hari pada suhu 25°C, fermentasi dilakukan dengan menggunakan shaker dengan kecepatan 800 rpm⁹.

Ekstraksi Isolat Fungi Endofit

Hasil dari fermentasi masing-masing isolat akan diperoleh supernatan dan miselia yang disaring menggunakan kertas saring kemudian diambil supernatannya dan diekstraksi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat dengan perbandingan 1:1 sebanyak 500 mL. Setelah itu diuapkan selama ± 24 jam untuk memperoleh ekstrak kental¹⁰.

Pengujian Kualitatif Metabolit Sekunder Dengan Metode KLT

Untuk Hasil ekstraksi masing-masing isolat fungi endofit dilakukan uji identifikasi kandungan metabolit sekunder yaitu flavanoid, alkaloid, fenolik, tanin, saponin dan terpenoid, steroid dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen N-heksan : etil asetat (1:4). Ekstrak kental masing masing isolat fungi endofit dilarutkan dengan

pelarut kloroform : metanol (1:1) dan ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan ukuran 7 cm x 1 cm yang telah diberi batas bawah 0,5 cm dan batas atas 0,1 cm. Plat KLT yang telah ditotol kemudian dielusi dengan eluen yang telah dijenuhkan didalam chamber. Selanjutnya noda diamati pada 366 nm. Dan disemprot dengan penampak noda untuk masing-masing uji metabolit sekundernya¹.

Untuk uji flavonoid disemprot dengan penampak noda $AlCl_3$ hasil positif ditunjukkan dengan adanya noda yang berwarna kuning yang cepat memudar. Untuk uji alkaloid penampak noda menggunakan pereaksi Dragendorff hasil positif yang ditunjukkan terbentuk noda berwarna jingga. Untuk uji fenolik penampak noda menggunakan pereaksi $FeCl_3$ hasil positif ditunjukkan terbentuk noda berwarna hijau, merah, ungu, biru kelabu dan hitam. Untuk uji tanin penampak noda menggunakan pereaksi $FeCl_3$ hasil positif menghasilkan noda berwarna biru kehitaman. Untuk uji saponin penampak noda menggunakan pereaksi HCl 1 N hasil positif bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin¹¹. Untuk uji steroid dan terpenoid penampak bercak menggunakan pereaksi Lieberman- Burchard hasil positif ditunjukkan adanya noda berwarna hijau kebiruan¹².

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian Kualitatif Dengan Metode KLT – Autografi

Lempeng KLT sebelum digunakan diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan pada oven suhu 100°C selama 30 menit. Dibuat larutan sampel ekstrak fermentat dari isolat fungi endofit kode IFBZ-5, IFBZ-6 dan IFBZ-7 dengan cara melarutkan dengan menggunakan pelarut tertentu. Kemudian masing masing larutan ekstrak fermentat ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm, masing masing Lempeng KLT tersebut dielusi menggunakan eluen tertentu, kemudian lempeng di masukkan kedalam chamber. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan sehingga cairan pengelusnya menguap. Lempeng kromatogram hasil elusi disemprotkan pereaksi 1,1-*Diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) 0,04%. Hasil penyemprotan dengan DPPH diamati bercak aktif yang positif memiliki potensi antioksidan berdasarkan bercak berwarna kuning pada sinar tampak dan di tentukan aktivitasnya terhadap peredaman radikal bebas DPPH menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis¹³.

Pengujian Kuantitatif Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH

Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 100 ppm dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 5 mg serbuk DPPH, kemudian dilarutkan dengan 50 mL pelarut metanol p.a dalam labu terukur. Dan dibuat konsentrasi 35 ppm dengan cara memipet

17,5 mL DPPH 100 ppm, kemudian dicukupkan volumenya hingga 50 mL¹⁴.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur larutan DPPH 35 ppm yang telah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang ditempat yang gelap dan dapat diukur pada spektrofotometer UV-Vis pada range panjang gelombang 400 - 800 nm dan diperoleh panjang gelombang maksimum 515 nm yang akan digunakan untuk pengukuran pembanding dan larutan uji¹⁵.

Pembuatan Larutan Dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pembanding BHT

Pembuatan larutan baku BHT 100 ppm dibuat dengan cara ditimbang 10 mg BHT dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a kemudian dikocok hingga homogen. Dibuat variasi konsentrasi larutan baku yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dibuat dengan cara memipet 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL dari larutan baku 100 ppm labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a hingga batas tanda.

Pengujian dilakukan dengan cara masing-masing variasi konsentrasi dipipet 1 mL dan ditambahkan 4 ml larutan DPPH 35 ppm lalu dihomogenkan, diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang gelap kemudian serapan diukur pada range panjang gelombang maksimum 515 nm^{16,17}.

Pembuatan Larutan Dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Isolat Fungi Endofit Pada Batang Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Larutan sampel 1000 ppm dibuat dengan cara ditimbang masing-masing 25 mg ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ-5, IFBZ-6 dan IFBZ-7 kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 25 mL dalam labu terukur. kemudian dihomogenkan Lalu dicukupkan volumenya hingga batas tanda.

Setelah itu dibuat beberapa variasi konsentrasi. 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm, dengan cara memipet 1; 2; 4; 6; dan 8 mL larutan baku 1000 ppm ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan metanol p.a hingga batas tanda. Masing-masing variasi konsentrasi dipipet 1 mL kemudian ditambah dengan 4 mL DPPH 35 ppm, kemudian dihomogenkan. Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang gelap kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515 nm^{16,17}.

Analisa data

Besarnya hambatan serapan radikal DPPH berdasarkan data absorbansi yang diperoleh, menggunakan persamaan berikut¹⁸:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100$$

Keterangan :

Abs. blanko = Absorban DPPH

Abs. sampel = Absorban Sampel Uji

Selanjutnya, nilai IC50 dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan : y

= a + bx dapat dihitung nilai IC50 dengan rumus¹⁹ :

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a}$$

Keterangan :

Y = 50 (penghambat 50% oksidasi)

X = IC₅₀ (bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%)

a = slope

b = intercept

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fungi endofit merupakan fungi yang hidup didalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tumbuhan inangnya. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif misalnya senyawa antifungi, antibakteri, antikanker, antivirus, antimalaria antioksidan dan sebagainya²⁰.

Salah satu tanaman yang menghasilkan fungi endofit adalah tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.). Berdasarkan penelitian oleh Andini Indah Permata Sari (2023) pada isolat fungi endofit dari tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) termasuk batang, daun, akar memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dan telah dilakukan identifikasi golongan komponen kimia dan diperoleh hasil positif

mengandung alkaloid, antrakuinon dan flavonoid yang merupakan salahsatu senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan²¹.

Setelah dilakukan pemurnian dan uji makroskopik, selanjutnya hasil isolat murni kemudian dilanjutkan ke proses fermentasi dengan tujuan untuk memperoleh metabolit sekunder dari isolat fungi endofit tanaman bidara. Fermentasi dilakukan dengan bantuan shaker kecepatan 200 rpm selama 21 hari dengan tujuan untuk menghasilkan metabolit sekunder berupa antioksidan, lalu hasil fermentasi tadi dipisahkan antara supernatan dan miselium yang selanjutnya akan di ekstraksi. Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian dilanjutkan untuk pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode pengukuran serapan radikal DPPH secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH yang berwarna ungu dan berubah menjadi warna kuning sehingga diperoleh senyawa lebih stabil. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peruluan warna dari ungu kekuning²².

Tabel 1. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan isolat fungi endofit pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.).

Kode Sampel	Uji kualitatif DPPH	Hasil Pengamatan	Warna pada penampak bercak	Jumlah Bercak	Nilai Rf
-------------	---------------------	------------------	----------------------------	---------------	----------

			UV 254 nm	UV 366 nm		
IFBZ 5	Kuning	+	Hijau	Ungu	2	0,70 0,4
IFBZ 6	Kuning	+	Hijau	Ungu	2	0,90 0,5
IFBZ 7	Kuning	+	Hijau	Ungu	3	0,74 0,47 0,30

Keterangan : + (positif) : Memiliki aktivitas antioksidan

Berdasarkan hasil pengujian kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 dari batang tanaman bidara memiliki potensi sebagai antioksidan dengan noda warna kuning berlatar ungu. Dan isolat fungi endofit batang bidara dengan kode isolat IFBZ5 terdapat 2 bercak aktif dengan nilai Rf 0,70 dan 0,4, untuk isolat kode IFBZ6 terdapat 2 bercak aktif dengan nilai Rf 0,90 dan 0,5 dan isolat kode IFBZ7 terdapat 3 bercak aktif dengan nilai Rf 0,74 , 0,47 dan

0,30 seperti yang terlihat pada lampiran (Tabel 2).

Untuk mengetahui golongan komponen kimia yang terkandung didalam isolat fungi endofit batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.), maka dilakukan uji kualitatif kandungan metabolit sekunder metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan menggunakan metode penyemprotan beberapa pereaksi spesifik penampak bercak. Hasil identifikasi golongan komponen kimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil identifikasi golongan komponen kimia aktif dari isolat fungi endofit pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.).

Komponen kimia	Pereaksi	Warna pada penampak bercak	Hasil		
			IFBZ5	IFBZ6	IFBZ7
Flavanoid	AlCl ₃	Kuning memudar coklat	+	+	+
Alkaloid	Dragendorff	Coklat muda kuning (Jingga)	+	+	+
Fenolik	FeCl ₃	Hijau,merah, Ungu,biru kelabu hitam	+	+	+
Saponin	HCl 1 N	Terbentuk busa stabil selama ±7 menit	-	-	-
Tannin	FeCl ₃	Biru kehitaman	-	-	-
Steroid & Terpenoid	Lieberman Burchard	Hijau kebiruan	-	-	-

Keterangan : (+): Terbentuk Noda Berwarna; (-): Tidak Terbentuk Noda Berwarna

Berdasarkan setelah dilakukan penyemprotan pada lempeng KLT dengan pereaksi spesifik bahwa isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) positif mengandung komponen kimia flavonoid, alkaloid dan fenolik. Keberadaan tiga senyawa ini membuat isolat fungi endofit memiliki peluang besar untuk bersifat sebagai antioksidan.

Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, sehingga diharapkan dapat melindungi sel terhadap oksidasi lipid. Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar dan batang. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid²³.

Fenolik berpotensi sebagai antioksidan. Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil yang berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika

bereaksi dengan senyawa radikal melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dihambat. Senyawa fenolik merupakan salah satu jenis antioksidan dalam bahan pangan. Senyawa fenolik terbukti sebagai sumber antioksidan yang efektif, menahan radikal bebas dan pengkelat ion logam. Aktivitas antioksidan berhubungan dengan senyawa fenol²⁴.

Alkaloid berpotensi sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer, pada pengujian alkaloid yang memberikan hasil positif hanya pada pereaksi dragendorff. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya warna coklat muda sampai kuning (jingga). Uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid²⁵.

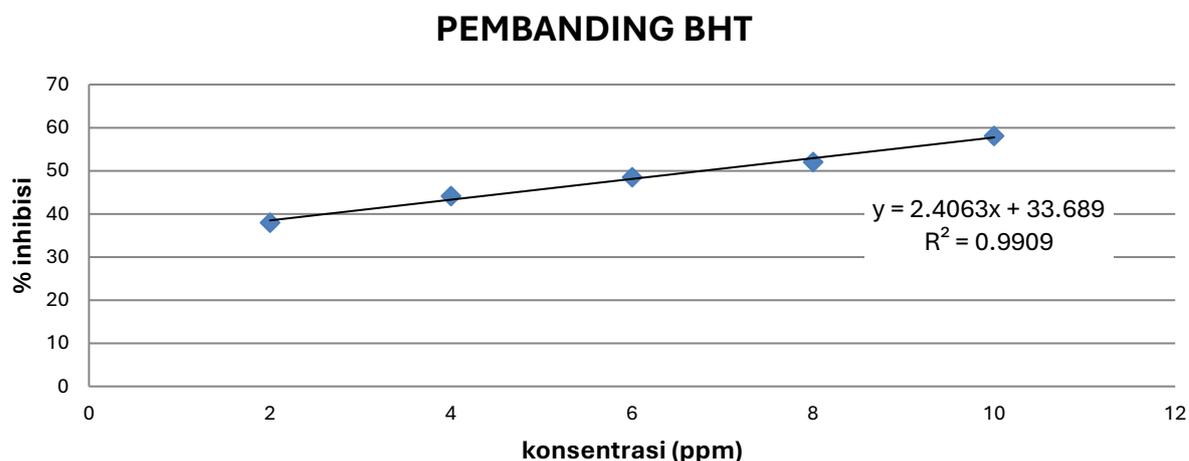
Tabel 3. Pengukuran Absorbansi, Persentase inhibisi, dan Nilai IC₅₀ dari pembanding BHT (Butilated Hydroxytoluene)

Pembanding	Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi Pembanding	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
BHT	2	0,530	37,939	6,778
	4	0,477	44,145	
	6	0,440	48,477	
	8	0,410	51,990	

10	0,358	58,079
Blanko	0,854	-

Setelah dilakukan pengukuran selanjutnya dihitung persen inhibisi untuk digunakan dalam membuat persamaan garis regresi linear yang digunakan dalam menentukan nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration) yang merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui tingkat

peredaman sampel terhadap radikal DPPH, yaitu konsentrasi aktivitas antioksidan yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH²⁴. Hasil pengukuran absorbansi, persentase inhibisi dan nilai IC₅₀ dari pembandingan dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 1. Kurva Baku Serapan Pembandingan BHT

Berdasarkan Gambar 1 diperoleh persamaan linearitas $y = 2,4063x + 33,689$ dengan $R^2 = 0,9909$ dan nilai $r = 0,995$, sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan pembandingan BHT diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 6,778 µg/mL.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5,

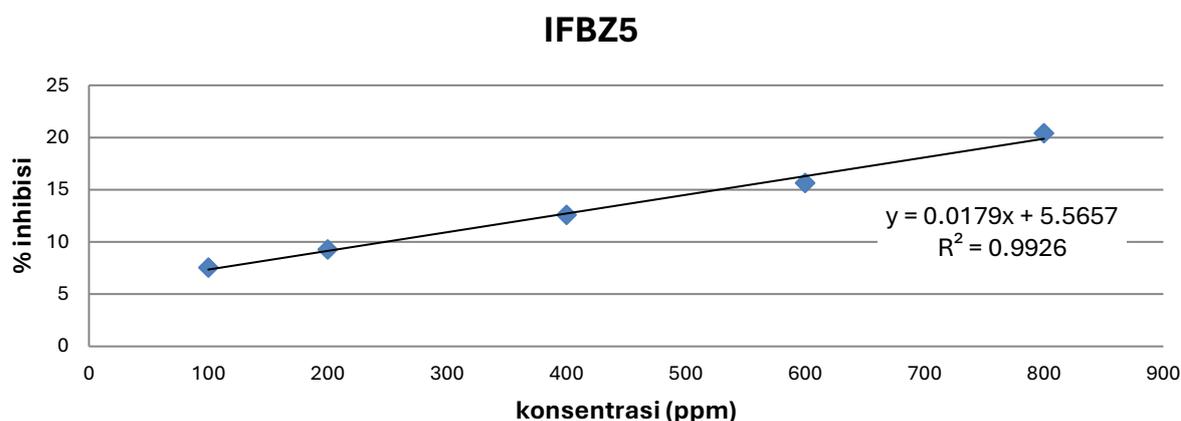
IFBZ6 dan IFBZ7 dari batang tanaman bidara (*Zizhipus mauritiana lam.*) dilakukan secara kuantitatif dengan metode peredaman radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Tahap pertama pembuatan larutan induk ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 dari batang tanaman bidara dibuat menjadi 5 seri konsentrasi masing-masing konsentrasi tersebut dipipet 1 mL dan 4 mL DPPH ditempat gelap, setelah itu diinkubasi

selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengujian aktivitas

antioksidan isolat fungi endofit dapat dilihat pada Tabel 5, 6 dan 7.

Tabel 4. Hasil pengukuran absorbansi, persentase inhibisi, dan nilai IC₅₀ dari isolat fungi endofit kode IFBZ-5 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Sampel	Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi sampel	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak fermentat Isolat fungi endofit Kode IFBZ5	100	0,639	7,525	2.482,36
	200	0,627	9,261	
	400	0,604	12,590	
	600	0,583	15,629	
	800	0,550	20,405	
	Blanko		0,691	



Gambar 2. Kurva Baku Serapan Isolat Fungi Endofit Kode IFBZ5 Pada Batang Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

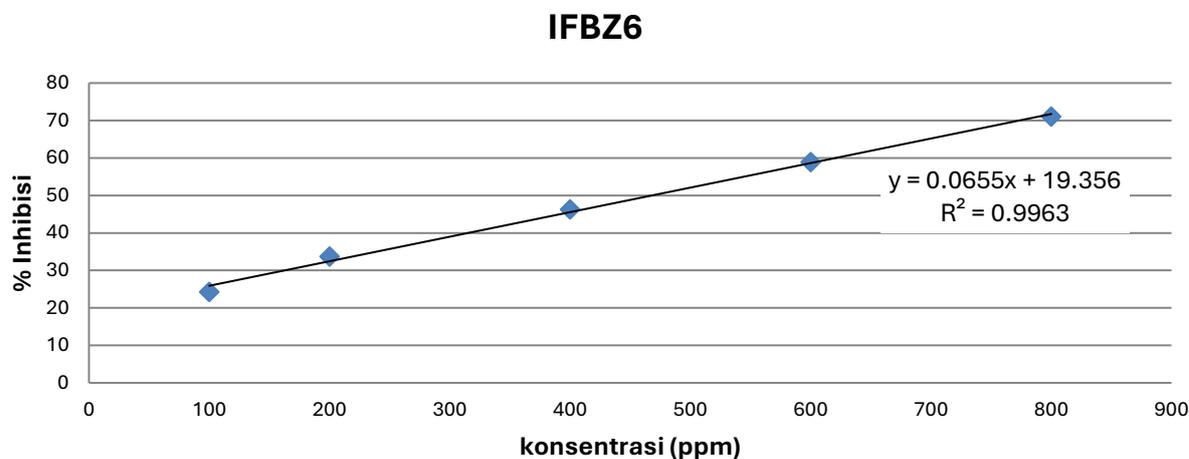
Berdasarkan pada Gambar 2 diperoleh persamaan lineritas ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) $y = 0,0179x + 5,5657$ dengan $R^2 = 0,9926$. Dimana hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r = 0,996$, sehingga dari

nilai yang di peroleh terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) 2.482,363 µg/mL. (Tabel 5)

Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persentase inhibisi, dan Nilai IC₅₀ dari Isolat Fungi Endofit Kode IFBZ-6 Pada Batang Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi sampel	%inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
	100	0,523	24,312	467,847
	200	0,458	33,719	

Ekstrak fermentat	400	0,371	46,309
Isolat fungi endofit	600	0,284	58,900
Kode IFBZ6	800	0,200	71,056
Blanko		0,691	-



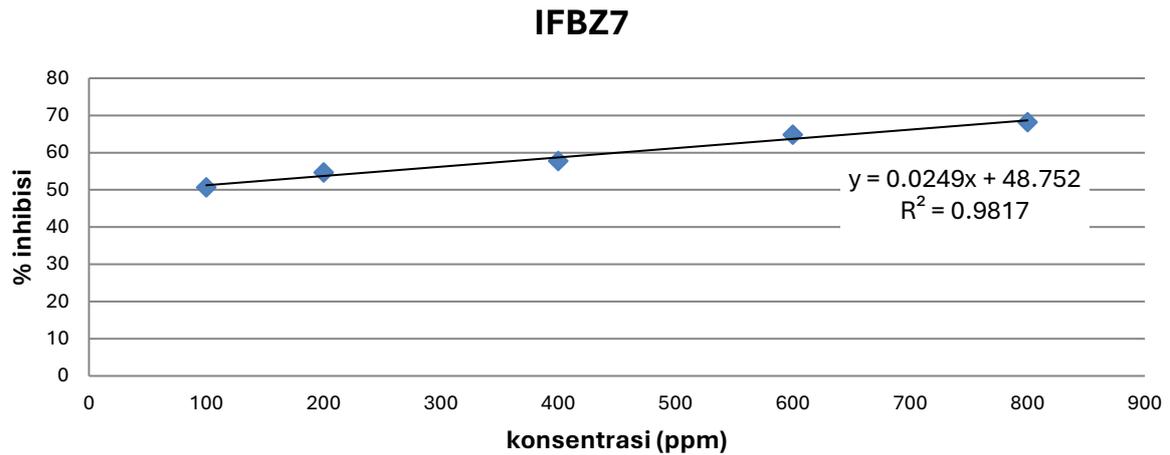
Gambar 3. Kurva Baku Serapan Isolat Fungi Endofit Kode IFBZ6 Pada Batang Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Berdasarkan pada Gambar 4 diperoleh persamaan linearitas ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ6 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) $y = 0,0655x + 19,356$ dengan $R^2 = 0,9963$. Dimana hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r = 0,998$, sehingga dari

nilai yang di peroleh terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak isolate fungi endofit kode IFBZ6 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) 467,847 $\mu\text{g/mL}$. (Tabel 6)

Tabel 6. Pengukuran Absorbansi, Persentase inhibisi, dan Nilai IC_{50} dari Isolat Fungi Endofit Kode IFBZ-7 Pada Batang Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Sampel	Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi sampel	% inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
	100	0,341	50,651	
	200	0,313	54,703	
Ekstrak fermentat	400	0,292	57,742	
Isolat fungi endofit	600	0,243	64,833	50,120
Kode IFBZ7	800	0,220	68,162	
Blanko		0,691	-	



Gambar 4. Kurva Baku Serapan Isolat Fungi Endofit Kode IFBZ7 Pada Batang Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Berdasarkan Berdasarkan pada Gambar 5 diperoleh persamaan linearitas ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ7 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) $y = 0,0249x + 48,752$ dengan $R^2 = 0,9817$ Dimana hasilnya tidak memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r = 0,990$. Sehingga dari nilai yang di peroleh tidak terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ7 pada batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) 50,120 $\mu\text{g/mL}$. (Tabel 7)

Pada penelitian ini diperoleh IC_{50} dari pembanding BHT sebesar 6,778 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} dari ekstrak isolat fungi endofit kode IFBZ5 sebesar 2.482,363 $\mu\text{g/mL}$, kode IFBZ6 sebesar 467,847 $\mu\text{g/mL}$ dan kode IFBZ7 sebesar 50,120 $\mu\text{g/mL}$. Suatu senyawa dinyatakan memiliki antioksidan yang sangat kuat jika IC_{50} bernilai < 50 ppm, kuat jika IC_{50} bernilai 50 –100 ppm, sedang

jika IC_{50} bernilai $> 100 - 150$ ppm, lemah jika IC_{50} bernilai $> 150 - 200$ ppm dan jika IC_{50} bernilai > 200 ppm maka antioksidannya sangat lemah²⁸.

Dari hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga isolat fungi endofit dari batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda karena ketiga isolat fungi endofit tersebut juga memiliki karakteristik fungi yang berbeda. Nilai IC_{50} untuk ekstrak isolat kode IFBZ5 dan IFBZ6 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah karena memiliki nilai IC_{50} yang berada pada range > 200 ppm, dimana isolat fungi endofit tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai antioksidan dan kode isolat IFBZ7 memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat karena memiliki nilai IC_{50} yang berada pada range 50 – 100 ppm. Dan untuk pembanding BHT memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat

karena memiliki nilai IC_{50} yang berada pada range < 50 ppm.

Faktor yang menyebabkan sangat lemahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak isolat fungi endofit adalah senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak isolat diduga masih dalam keadaan yang tidak murni. Selain itu karena faktor bahan penelitian yang kurang bagus atau telah terkontamiasi oleh zat lain dan memiliki sifat yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan²⁶.

KESIMPULAN

Isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 dari batang tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} kode IFBZ5 dan IFBZ6 sebesar 2.482,363 $\mu\text{g/mL}$ dan 467,847 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioksidan yang sangat lemah dan untuk kode isolat IFBZ7 dengan nilai IC_{50} sebesar 50,120 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioksidan yang kuat sedangkan nilai IC_{50} BHT sebagai pembanding sebesar 6,778 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori aktivitas antioskidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} jauh lebih besar dari pada nilai IC_{50} BHT sebagai pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan isolat fungi endofit kode IFBZ5, IFBZ6 dan IFBZ7 lebih rendah dibandingkan dengan BHT sebagai pembanding dengan menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hasiani VV, Ahmad I, Rijai L. Isolasi

Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2015;1(4): 146-153.

2. Nandang Safrudin dan Fitri Nurfitasari. 2018. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Jurnal ITEKIMA*. 2548-947x
3. Gaur A. dan G. N. Sharma. 2013. *Ziziphus mauritiana* Lam-an overview. *Indo American Journal of Pharm Research*. 3(6): 4560-4566.
4. Apak, R. (2019). Current issues in antioxidant measurement. *J Agric Food Chem*. 67. 9187–9202. Doi: 10.1021/acs.jafc.9b03657
5. Asri ikhwan, M., Sabaruddin., Fitriana. Isolasi Fungi Endofit Daun Srikaya (*Annona muricata* L.) Sebagai antioksidan secara KLT-Autografi. *Journal Microbiology Science* September 2021;1(1):16-22
6. Khusnul Annisa. 2023. 'Penentuan Waktu Optimum Produksi Antibakteri Isolat Fungi Endofit Dari Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) S.Farm'. *Skripsi. Universitas Muslim Indonesia* : Makassar.
7. James and Agalloco. Validation of Pharmaceutical Processes (electronic version). *USA: Informa Healthcare Inc, 2008*
8. Kjer J, Debbab A, Aly AH, Proksch P. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nat Protoc*. 2010;5(3);479-90
9. Rusli, R., Syfriani, N.V., Hatta, S. & Wais, M. 2017. 'Optimasi Produksi Antibiotika Isolat Terpilih Fungi Endofit Ikd Ff-Umi 02 Dari Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Variasi Sumber Karbon'. *As- Syifaa Jurnal Farmasi*, 9(1), pp.99-105.
10. Rante, H., Umar, A.H. & Mau, D.P. 2021.

- 'Isolasi Fungi Endofit Dari Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri'. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 25(2), pp.66-68.
11. Abdullah M, Fitriana F, Maryam St. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Fungi Endofit Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L.) dengan Metode 1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazil (DPPH). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2020; 12(2):117–122
 12. Najoan, J.J., Runtuwene, M.J.R., Wewengkang, D.S., (2016), Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L.), *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1): 266-274.
 13. Wigati, Dyan, and Ryan Radix Rahardian. 2018. "Penetapan Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Hasil Perkolasi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.)Merr)." *JIFFK : Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik* 15(2): 36.
 14. Deponda, R. A., Fitriana, Siska N., dan Herwin. 2019. Isolasi Fungi. Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri Secara Metode KLT-Bioautografi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi* 11(2) : 147-153.
 15. Herwin, Baits M, Ririn. Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Fraksi Daun *Colocacia esculenta* L. dengan Metode KLT-Bioautografi Dan Difenilpikril Hidrazil. *As-Syifaa*. 2015;7(2):174–81.3.
 16. Aminah., Maryam, S., Bits M., & Kalsum, U. (2016). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Peredaman DPPH. *In Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol. 3 (1).
 17. Ratri Diah Muktisari & Fadjar Kurnia Hartati. 2021. 'Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Beras Hitam dan Tepung Beras Hitam (*Oryza sativa* L.*indica*)'. *Food Science and Technology Journal*, 1 : 20- 27.
 18. Purwanto Didit, Bahri Syaiful, dan Ridhay Ahmad. 2017. 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut'. *KOVALEN Jurnal Riset Kimia*, 3(1): 24-32.
 19. Aminah, St. Maryam, Muzakkir Baits, Ummi Kalsum. 2016. 'Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh dengan Metode Peredaman DPPH'. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(1): 146-150.
 20. Setiawan MA, Musdalipah. 2018. Uji daya hambat antibakteri fungi endofit daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Mandala Harmacon Indonesia*. 4(1): 53-60.
 21. Andini Indah Permata Sari. 2023. 'Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit Dari Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) secara KLT-Bioautografi S.Farm'. *Skripsi. Universitas Muslim Indonesia : Makassar*.
 22. Fitriana, Maryam St, Naid T, Maryana. Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika dari Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr). *Jurnal Farmasi Asy-Syifaa*. 2016;8(01):01-08
 23. Handayani S. Dajibu NP. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Daun (*Acanthus* L) Metode peredaman Radikal Bebas (DPPH). *Jurnal Indonesia*, vol. 5no. 2pp. 299-308.
 24. Banjarnahor, S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*. 23(4), 239-244. 23i4.1015
 25. Meskin MS, Bidlack WR, Davies AJ, Omaye ST. 2002. *Phytochemical Nutrition and Health*. London-New York. *CRC Press*.
 26. Hidayati, J. R., Ridlo, A., & Pramesti, R.

- (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Padina* sp. Dari Perairan Bandengan Jepara Dengan Metode Transfer Elektron. *Buletin Oseanografi Marina*, 6(1), 46–52.
27. Hafid, A.F., (2003). Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH Fraksi Metanol *Frageae auriculata* dan *Frageaea ceilanica*. *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol. III, Surabaya, hal 34-39.
28. Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
29. Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A. 2008, Jawetz, Melnick and Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran* (terj.). Jakarta: EGC.
30. Winarsi, H. 2002. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.