

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER *Sporothrix* sp. LBKURCC43 YANG DIISOLASI DARI TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*)

Siti Rahmah^{1*}, Saryono¹, Yum Eryanti¹

¹*Pascasarjana Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau
Kampus Binawidya KM 12,5 Simpang Baru Pekanbaru, 28293 Indonesia
e-mail: srahmah116@gmail.com, [saryono ur@yahoo.com](mailto:saryono_ur@yahoo.com), ym.eryanti@gmail.com

ABSTRAK

Jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 merupakan salah satu fungi endofit yang berhasil diisolasi dari umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). Tujuan penelitian ini adalah untuk memproduksi dan menguji aktivitas antioksidan metabolit sekunder dari jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 pada media Huang. Hasil uji antioksidan terhadap metabolit sekunder yang dianalisis dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada hari ke-20 dengan nilai IC₅₀ sebesar 828,614 µg/mL.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, metabolit sekunder, *Sporothrix* sp.

ABSTRACT

Fungus *Sporothrix* sp. LBKURCC43 is one of fungi which has been succeeded to be isolated from Dahlia tuber (*Dahlia variabilis*). This research aimed to produce secondary metabolites and antioxidant activity secondary metabolites of fungus *Sporothrix* sp. LBKURCC43 in Huang medium. Measurement of antioxidant activity on secondary metabolites were analyzed by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) showed the highest activity was found in 20th day secondary metabolites in Huang medium with IC₅₀ 828,614 µg/mL.

Keywords : antioxidant activity, secondary metabolites, *Sporothrix* sp.

PENDAHULUAN

Mikroba endofit adalah mikroba yang seluruh atau sebagian hidupnya berada di dalam jaringan hidup tanaman inang tanpa menimbulkan gejala yang merugikan bagi tanaman inang itu sendiri. Tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) merupakan salah satu tanaman berumbi yang banyak digunakan sebagai tanaman hias. Tanaman dahlia memiliki bermacam warna bunga yaitu putih, kuning, jingga, violet, merah, ungu dan campurannya.

Hampir di dalam semua jaringan tanaman yang sehat, ada banyak mikroba endofit. Mikroba endofit sangat bermanfaat bagi tanaman inang dan sebagian dari endofit mampu membuat kembali nutrisi dari tanaman dengan cara menghasilkan senyawa metabolisme sekunder, untuk melindungi inangnya dari serangan jamur dan hama.

Banyak dari metabolit sekunder berpotensi sebagai antibiotik (Valli, 2012). Menurut Gonzales, *et al* (2003) metabolit sekunder merupakan senyawa dengan struktur kimia yang bervariasi dan rumit yang diproduksi oleh beberapa spesies mikroba dan beberapa tumbuhan.

Produksi senyawa metabolit sekunder oleh mikroorganisme endofit ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya komposisi media (Pratiwi, 2008). Untuk mengetahui pengaruh komposisi media terhadap produksi senyawa metabolit sekunder, maka media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media Huang (Huang *et al.*, 2007).

Metabolit sekunder dari jamur endofit (*Sporothrix* sp. LBKURCC43) yang dihasilkan dapat dianalisis aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf *Electrical Model* No.25x (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc., Monitowoc), *vortex mixer* H-VM-300, mikrosentrifuga berpendingin Hitachi CT15RE, *rotary shaker* (DAIHAN LABTECH CO., LTD), *vacuum rotary evaporator*, eppendorf, desikator dan tabung mikro.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA) No. Cat. 1.10130.0500, sukrosa, natrium nitrat (NaNO_3), kalium klorida (KCl), *Yeast Extract*, kalium dihidrogen posfat (KH_2PO_4), magnesium sulfat hepta hidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), dan besi sulfat hepta hidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical Sigma-Aldrich*).

Mikroorganisme yang digunakan

Isolat jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 yang digunakan merupakan koleksi laboratorium Biokimia, FMIPA, Universitas Riau, yang telah diisolasi dari umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) pada penelitian sebelumnya (Lorenita, 2013) dan dipelihara pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

Peremajaan isolat jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 pada media PDA

Isolat jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 diambil dengan menggunakan ose secara aseptis dan diinokulasikan ke media PDA. Media PDA yang telah diinokulasikan isolat jamur *Sporothrix* sp. LBKURCC43 diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari atau hingga spora putih tumbuh lebat.

Media fermentasi Huang

Komposisi pembuatan media ini dapat dilihat pada **Tabel 1**. Semua bahan dilarutkan ke dalam 150 mL akuades dan dipanaskan hingga larut, setelah larut media disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C

(tekanan uap 15 lbs) selama 20 menit. Media dibiarkan sehari untuk melihat ada atau tidaknya kontaminasi. Jika tidak terlihat tanda-tanda kontaminasi, maka media siap digunakan.

Tabel 1. Komposisi media fermentasi Huang

Komposisi	Berat
Sukrosa	4,5 g
NaNO_3	0,45 g
KH_2PO_4	0,15 g
Ekstrak ragi	0,15 g
KCl	0,075 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,075 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,015 g
Aquades	150 mL

Sumber: (Huang *et al.*, 2007)

Fermentasi jamur endofit

Jamur endofit yang diinokulasikan pada media fermentasi sebanyak 5% dari media starter yang sebelumnya telah diremajakan 24 jam. Pengukuran OD (*Optical Density*) dilakukan sebelum inokulum starter diinokulasikan ke dalam media fermentasi yang bertujuan agar jumlah sel yang diinokulasikan sama untuk setiap pengulangan dimana $\text{OD}_{660\text{nm}}$ sebesar 0,1 setara dengan 107 CFU/mL (Martins *et al.*, 2011). Inokulum jamur endofit diinokulasikan kedalam 150 mL media fermentasi Huang, kemudian diinkubasi selama 20 hari pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Tiap selang 5 hari, media fermentasi Huang dipanen. Kultur jamur hasil fermentasi diambil dan disentrifus dengan kecepatan 13000 rpm selama 10 menit. Untuk mendapatkan ekstrak dari kultur hasil fermentasi digunakan *vacuum rotary evaporator*. Ekstrak metabolit sekunder inilah yang akan digunakan untuk uji antioksidan.

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan uji DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader two fold delution* dengan metode

DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (Zhang *et al.*, 2006) pada panjang gelombang 520 nm. Sampel sebanyak 2 mg dalam 2 mL MeOH dalam hal ini konsentrasi sampel 1000 µg/mL. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL (*plate* terdiri dari baris A-H masing-masing berjumlah 12 sumur). Sebanyak 50 µL MeOH dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B-F. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dimasukkan ke baris C dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet 50 µL lalu dibuang, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL dan 31,25 µg/mL. Sedangkan pada baris G-H diisi dengan MeOH 50 µL, khusus pada baris H diisi hanya sumur 1-6. Baris A-G ditambahkan DPPH 80 ppm sebanyak 50 µL. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. *Inhibition Concentration 50* (IC₅₀) ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi sampel. Larutan asam askorbat digunakan sebagai kontrol (+).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antioksidan terhadap metabolit sekunder hari ke-5, hari ke-10, hari ke-15, dan hari ke-20 dari media fermentasi Huang. Analisis ini dinyatakan dengan IC₅₀ sebagai indikator kemampuan hambatan sebesar 50% dari sampel uji dengan menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif.

Nilai IC₅₀ terbaik ditunjukkan pada hari ke-20. Uji antioksidan ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas masing-masing metabolit sekunder dari jamur endofit *Sporothrix* sp. LBKURCC43 dalam meredam radikal DPPH dengan menggunakan *microplate reader 96 well* (*Berthold technologies*) pada panjang gelombang 520 nm. Absorbansi berkurang ketika radikal DPPH dihambat oleh antioksidan melalui donor hidrogen untuk membentuk DPPH yang stabil (Gulcin, 2006). Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu ke kuning (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa metabolit sekunder hari ke-20 media fermentasi Huang mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 828,614 µg/mL (**Tabel 3**).

Pada **Tabel 3** pada media fermentasi Huang menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan terhadap metabolit sekunder hari ke-5, hari ke-10, hari ke-15, dan hari ke-20, yang dapat dilihat dari nilai IC₅₀ nya. Pada metabolit sekunder hari ke-5 sampai hari ke-20 terjadi peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pada media fermentasi Huang, semakin lama waktu fermentasi jamur endofit *Sporothrix* sp. LBKURCC43 mengakibatkan aktivitas antioksidan mengalami kenaikan.

Tabel 2. Nilai % hambat dan IC₅₀ DPPH terhadap metabolit sekunder hari ke-5, hari ke-10, hari ke-15, dan hari ke-20 pada media fermentasi Huang

Metabolit sekunder	Konsentrasi (µg/mL)	Pengulangan			Rata-Rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		1	2	3				
H-5	1000	0,189	0,189	0,188	0,1887	0,1288	51,853	929,470
	500	0,208	0,209	0,209	0,2087	0,1488	44,3787	
	250	0,249	0,248	0,248	0,2483	0,1885	29,5547	
	125	0,269	0,268	0,269	0,2687	0,2088	21,9558	
	62,5	0,288	0,287	0,285	0,2867	0,2268	15,2289	
	31,25	0,308	0,306	0,306	0,3067	0,2468	7,75459	

H-10	1000	0,189	0,188	0,188	0,1883	0,1285	51,9776	899,763
	500	0,207	0,208	0,208	0,2077	0,1478	44,7524	
	250	0,247	0,246	0,248	0,247	0,1872	30,0529	
	125	0,269	0,267	0,267	0,2677	0,2078	22,3295	
	62,5	0,286	0,286	0,287	0,2863	0,2265	15,3535	
	31,25	0,307	0,308	0,308	0,3077	0,2478	7,38088	
H-15	1000	0,188	0,188	0,188	0,188	0,1282	52,1021	884,329
	500	0,206	0,205	0,204	0,205	0,1452	45,749	
	250	0,247	0,245	0,246	0,246	0,1862	30,4267	
	125	0,266	0,263	0,268	0,2657	0,2058	23,0769	
	62,5	0,283	0,283	0,285	0,2837	0,2238	16,35	
	31,25	0,305	0,305	0,305	0,305	0,2452	8,37745	
H-20	1000	0,184	0,181	0,188	0,1843	0,1245	53,4724	828,614
	500	0,208	0,204	0,204	0,2053	0,1455	45,6244	
	250	0,245	0,246	0,244	0,245	0,1852	30,8004	
	125	0,264	0,261	0,267	0,264	0,2042	23,6998	
	62,5	0,282	0,282	0,283	0,2823	0,2225	16,8483	
	31,25	0,304	0,303	0,305	0,304	0,2442	8,75117	

Tabel 3. Nilai % hambat dan IC₅₀ DPPH terhadap metabolit sekunder hari ke-5, hari ke-10, hari ke-15, dan hari ke-20 pada media fermentasi Huang

No	Fraksi	% hambat	IC ₅₀ (µg/mL)
1.	Hari ke-5	51,853	929,470
2.	Hari ke-10	51,9776	899,763
3.	Hari ke-15	52,1021	884,329
4.	Hari ke-20	53,4724	828,614

Dalam hal ini komposisi dari media fermentasi Huang juga berpengaruh dalam memproduksi metabolit sekunder yang dibuktikan dari nilai aktivitas antioksidan yang paling tinggi pada hari ke-20. Hal ini disebabkan karena kemungkinan kandungan yang terbanyak dalam media Huang adalah senyawa bioaktif dari kelompok protein. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Siswoyo dkk., (2007) menjelaskan bahwa senyawa protein mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Hal ini dibuktikan

dari hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh bahwa protein yang terkandung dalam media Huang mempunyai kemampuan aktivitas antioksidan yang mampu mencegah terjadinya proses oksidasi yang ditandai dengan hasil IC₅₀.

SIMPULAN

Hasil uji aktivitas antioksidan pada media fermentasi Huang memiliki Nilai IC₅₀ terbaik yang

ditunjukkan pada metabolit sekunder hari ke-20 dengan nilai IC_{50} sebesar 828,614 $\mu\text{g/mL}$.

SARAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka perlu dilakukan penelitian mengenai penentuan senyawa dari metabolit sekunder yang dihasilkan dari jamur endofit (*Sporothrix* sp. LBKURCC43).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dengan dana penelitian Skema Hibah Bersaing Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, melalui Dana Desentralisasi DIPA Universitas Riau, a.n. Prof. Dr. Saryono, MS sebagai peneliti utama dengan nomor kontrak 540/UN.195.1.3/LT/2016, tanggal 21 Maret 2016 sesuai dengan DIPA Universitas Riau No. DIPA-042.01.2.400949/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Gonzales J. Barrios, F. J. Fernandez, A. Tomasini. 2003. Microbial Secondary Metabolites Production and Strain Improvement. *Indian Journal of Biotechnology*, 2: 322-333.
- Gulcin, I., Bursal, E., Schitoglu, H., Bilsel, M., & Goren, A.C. 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from erzurum, turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2227-2238.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Corke, H., Hyde, K.D., & 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.
- Lorenita, M., Haryani, Y., Puspita, F., Trihartomo, D., & Sikumbang, S. 2013. Screening of endophytic fungi from tubers of *Dahlia variabilis*. *Journal of Agricultural Technology*, 9(3): 565-570.
- Martins, I.M., Cortes, J.C.G., Munoz, J., Moreno, M.B., Ramos, M., Clemente, J.A., Duran, A., & Ribas, J.C. 2011. Differential activities of three families of specific β (1,3) glucan synthase inhibitors in wild-type and resistant strains of fission yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 286 (5): 3484-3496.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journals Science Technology*, 26 (2): 212-219.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta: Erlangga.
- Siswoyo, T.A., Aldino, M., Ningsih, W., & Okviandari, P. 2007. Isolasi Protein Antioksidan dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Seminar Nasional PATPI*. Bandung.