



**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI ENDOFIT BATANG
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg)
SERTA PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DENGAN METODE DPPH**

SKRIPSI

Oleh :

Jihan Fatmalah

162210101081

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI ENDOFIT BATANG
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg)
SERTA PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DENGAN METODE DPPH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

Jihan Fatmalah
162210101081

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibu Suliyah dan Ayah Suwarto, untuk cinta, doa, dukungan, jerih payah, dan segala hal tak ternilai yang telah dicurahkan;
2. Kakak Khoirun Nisa', S.Farm., Apt., untuk menjadi kakak terbaik yang pernah ada;
3. Segenap keluarga besar, untuk doa tulus yang selalu diiringkan;
4. Para pahlawan tanpa tanda jasa, untuk segala ilmu dan tauladan yang telah diberikan;
5. Teman-teman UKKI Asy-Syifa' dan UKM KARISMA, untuk segala proses yang tak mungkin bisa didapatkan di tempat lain;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember, semoga skripsi ini bermanfaat.

MOTTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”

(Al-Baqarah: 216)

Rasulullah *Shallallahu 'alaihi Wasallam* bersabda:

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni)

“Jika kita tidak pernah mau mencoba karena takut akan kegagalan, itu berarti kita tidak mau mencoba untuk merasakan kesuksesan”

(Penulis)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jihan Fatmalah

NIM : 162210101081

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Penelusuran dan Isolasi Fungi Endofit Batang Kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) serta Penetapan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Mei 2020

Yang menyatakan,

(Jihan Fatmalah)

NIM 162210101081

SKRIPSI

**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI ENDOFIT BATANG
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg)
SERTA PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DENGAN METODE DPPH**

Oleh :

Jihan Fatmalah

NIM 162210101081

Dosen Pembimbing :

Dosen pembimbing utama : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen pembimbing anggota : Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penelusuran dan Isolasi Fungi Endofit Batang Kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) serta Penetapan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH” karya Jihan Fatmalah telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 20 Mei 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP.198504282009121004

Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198201292009121003

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Ari S.N,S.F.,GDipSc.,M.Sc-Res.,Ph.D.,Apt.
NIP.197807212003121001

Nia K, S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP. 198204062006042001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP.197604142002122001

RINGKASAN

Penelusuran dan Isolasi Fungi Endofit Batang Kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) serta Penetapan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH: Jihan Fatmalah: 162210101081; 2016; 93 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Indonesia merupakan negara dengan wilayah hutan yang cukup luas termasuk dengan banyaknya spesies tanaman obat. Tanaman obat mampu memberikan aktivitas farmakologis karena mengandung senyawa aktif berupa metabolit sekunder. Metabolit sekunder ini dapat berperan dalam pengobatan, salah satunya sebagai antioksidan. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan dan penuaan yang disebabkan oleh molekul reaktif atau radikal bebas. Beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh radikal bebas yaitu penyakit alergi, infeksi, kemunduran fungsi otak, diabetes melitus, jantung koroner, hingga kanker. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu tanaman kepundung (*Baccaurea racemosa*) yang telah banyak diteliti sebelumnya, namun belum ada penelitian terkait fungi endofitnya sebagai sumber penemuan obat baru.

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan penelusuran fungi endofit pada batang *Baccaurea racemosa* yang dapat berperan sebagai antioksidan dan skrining fitokimianya. Uji antioksidan ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit batang *Baccaurea racemosa* dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji antioksidan dilaporkan dalam *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀) dan kontrol positif yang digunakan yaitu kuersetin (2- (3, 4 - Dihydroxyphenyl) - 3, 5, 7 - trihydroxy - 4H - 1 - benzopyran - 4 - one, 3, 3', 4', 5, 6 - Pentahydroxyflavone). Skrining fitokimia yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya golongan senyawa fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid/steroid pada ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit batang *Baccaurea racemosa*. Pengujian dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄ dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (10:1:0,5).

Hasil uji antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar. Nilai IC_{50} fungi endofit batang *Baccaurea racemosa* jika diurutkan dari yang terkecil yaitu fungsi dengan kode BK3 ($28,581 \pm 1,103 \mu\text{g/mL}$), kemudian BK2 ($197,956 \pm 6,426 \mu\text{g/mL}$), dan BK1 ($424,360 \pm 15,136 \mu\text{g/mL}$), sedangkan nilai IC_{50} kuersetin yang didapat yaitu $3,305 \pm 0,101 \mu\text{g/mL}$. Hasil skrining fitokimia dari semua fungsi menunjukkan hasil yang positif terhadap uji golongan senyawa fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid/steroid.

Hasil statistik normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal, namun tidak homogen, sehingga dilakukan transformasi data menggunakan Log, dan didapatkan hasil yang normal serta homogen dengan nilai signifikansi $> 0,05$. *One Way ANOVA* dan *post hoc* menunjukkan hasil signifikansi $< 0,05$ yang berarti bahwa semua sampel memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penelusuran dan Isolasi Fungi Endofit Batang Kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) serta Penetapan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan dan terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing anggota yang telah bersedia memberikan saran, bimbingan, serta bantuan selama penelitian dan penulisan skripsi ini;
3. Bapak Ari Satya Nugraha, S.F., GDipSc., M.Sc-Res., Ph.D., Apt. selaku dosen penguji I dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku dosen penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun untuk skripsi ini;
4. Bapak Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama menuntut ilmu di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Seluruh Bapak dan Ibu dosen atas ilmu yang telah diberikan, serta staf dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Bu Wayan dan Bu Hany selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi serta Mbak Dinik dan Mbak Indri selaku teknisi Laboratorium Biomedik atas bantuan yang diberikan selama penelitian;
7. Ibu Suliyah, Ayah Suwarto, dan Kakak Khoirun Nisa' atas cinta, doa, dan dukungan yang telah diberikan, tanpanya penulis bukanlah apa-apa;

8. UKM KARISMA dan UKKI Asy-Syifa' beserta seluruh personilnya, yang telah menjadi wadah bagi penulis untuk mempelajari segala hal yang tidak akan diajarkan di perkuliahan;
9. Teman bucin Nisak dan Ragil, sobat seper-Jombang-an Elin, Jeni, Hariz, serta Nargiss selaku teman pembimbing bagi penulis;
10. Saudara serumah *KALPATUPAT*, Dek Heni, Dek Thasya, Dek Divta, Mbak Nila Lutfiatul Khoiroh, Mbak Tya Uswatun Hasanah, Mbak Rima Dwi Cahyani, Mbak Nila Sofia, Mbak Dini, dan Mbak Luluk yang mampu membuat hari-hari penulis menjadi berwarna;
11. *Partner* praktikum yang luar biasa dalam berbagi ilmu sebelum *pre-tes*, Nisak, Intan Mauren, Ima alias Umi, Maya, Ayu Sam, Shafira, Monika, Vinda, Lady, Eka Cahya, dan Tata serta dulur-dulur seangkatan 2016, MORFIN, yang namanya tidak bisa disebutkan satu-persatu;
12. Teman satu proyek Febrian, Zion, Caca, Mbak Nita, Mbak Lanjar, Mas Gayuh, dan Mas Juju yang telah berjuang bersama serta memberikan bimbingan yang luar biasa.
13. Teman se-perfungsian Afrian, Kibthi, Ziyan, Arofah, dan Ferina yang telah meluangkan waktu untuk saling memahami fungsi satu sama lain;
14. Teman 'menggila' selama penelitian di Lab. Kimia Farmasi Vinda, Indri, Kiki, Silka, Rahma, Dayu;
15. Adek yang tak lelah menemani dan membantu proses penyusunan skripsi, Naura, Wilda, dan Heni.
16. Serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 20 Mei 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Radikal Bebas	5
2.2 Tinjauan Antioksidan.....	6
2.3 Tinjauan Tanaman Kepundung (<i>Baccaurea racemosa</i>).....	8
2.3.1 Klasifikasi Taksonomi Tanaman	8
2.3.2 Sebaran dan Nama Lokal Tanaman	9
2.3.3 Deskripsi Senyawa Fitokimia dalam Tanaman.....	10
2.3.4 Penelitian terkait tanaman	11
2.4 Tinjauan Fungi Endofit.....	12
2.5 Tinjauan Terkait Isolasi, Fermentasi, dan Ekstraksi Fungi Endofit.....	17
2.5.1 Isolasi Fungi Endofit.....	17

2.5.2	Fermentasi Fungi Endofit.....	17
2.5.3	Ekstraksi Fungi Endofit	19
2.6	Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan	20
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	22
3.1	Jenis Penelitian.....	22
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.3	Variabel Penelitian	22
3.3.1	Variabel Bebas	22
3.3.2	Variabel terikat.....	22
3.3.3	Variabel terkontrol.....	22
3.4	Definisi Operasional	23
3.5	Alat dan Bahan.....	23
3.5.1	Alat.....	23
3.5.2	Bahan	23
3.6	Rancangan Penelitian	24
3.7	Prosedur Kerja.....	25
3.7.1	Sterilisasi Alat dan Bahan	25
3.7.2	Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	25
3.7.3	Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB).....	25
3.7.4	Pembuatan Media <i>Rose Bengal Chloramphenicol Agar</i>	25
3.7.5	Isolasi Fungi Endofit dari Batang <i>Baccaurea racemosa</i>	26
3.7.6	Pemurnian Fungi Endofit	26
3.7.7	Fermentasi	26
3.7.8	Ekstraksi.....	27
3.7.9	Skrining Fitokimia	27
3.7.10	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang <i>Baccaurea racemosa</i>	28
3.7.11	Analisis Data	30
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1	Determinasi Tanaman <i>Baccaurea racemosa</i> (Reinw.) Muell. Arg	31

4.2	Isolasi Fungi Endofit dari Batang <i>Baccaurea racemosa</i>	31
4.3	Pemurnian dan Identifikasi Morfologi Makroskopis serta Mikroskopis Fungi Endofit	33
4.4	Fermentasi Fungi Endofit	36
4.5	Ekstraksi Fungi Endofit	37
4.6	Skrining Fitokimia	39
4.7	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang <i>Baccaurea racemosa</i>	41
4.7.1	Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	41
4.7.2	Penetapan Aktivitas Antioksidan	42
4.8	Analisis Data.....	45
BAB 5.	PENUTUP	46
5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kerusakan jaringan oleh radikal bebas (Murray dkk., 2012)	6
2.2 (a) daun, (b) batang dan buah, (c) pohon tanaman <i>Baccaurea racemosa</i> (Tim, 2012).....	9
2.3 (a) Gambaran mikroskopis hifa dan spora/konidia fungi yang diisolasi dari <i>Trichilia elegans</i> , (b) makroskopis fungi	13
2.4 Contoh konidia dari <i>ascomycetes</i> . (a) <i>Basipetospora variabilis</i> , (b) <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	14
2.5 Contoh struktur metabolit sekunder fungi endofit (Schulz dkk., 2002; Drahansky dkk., 2016).....	15
2.6 (a) struktur pestacin, (b) struktur isopestacin, (c) struktur flavonoid (Xu dkk., 2010).....	16
2.7 Skema pertumbuhan fungi pada metode batch fermentation (Sumber : Stanbury dkk., 2016)	19
2.8 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004).....	21
4.1 Isolat fungi dari Batang <i>Baccaurea racemosa</i> di atas media <i>Rose Bengal</i> <i>Chloramphenicol</i>	32
4.2 (a) Makroskopis fungi BK1 di atas media PDA yang diinkubasi selama 16 hari, dan (b) Mikroskopis fungi BK1	34
4.3 (a) Makroskopis fungi BK2 di atas media PDA yang diinkubasi selama 27 hari, dan (b) Mikroskopis fungi BK2	34
4.4 (a) Makroskopis fungi BK3 di atas media PDA yang diinkubasi selama 16 hari, dan (b) Mikroskopis fungi BK3	35
4.5 Struktur senyawa asam klorogenat, asam kafeat, stagonoculiepine, stagonoculiazin, kuersetin, rutin, dan sester-terpenoid.....	41
4.6 Spektrogram larutan DPPH 0,1 mM.....	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Aktivitas antioksidan daun dan batang <i>Baccaura racemosa</i>	11
2.2 Aktivitas antibakteri <i>Baccaurea racemosa</i> terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i>	12
4.1 Perbedaan Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Batang <i>Baccaurea racemosa</i>	36
4.2 Fermentasi Fungi Endofit pada Media PDB.....	37
4.3 Hasil Ekstraksi Fungi Endofit Tanaman <i>Baccaurea racemosa</i>	38
4.4 Hasil Skrining Fitokimia	39
4.5 Tingkat Kekuatan Antioksidan (Kusmardiyani dkk., 2016).....	43
4.6 Aktivitas antioksidan (IC ₅₀).....	43
4.7 Hubungan hasil skrining fitokimia dengan aktivitas antioksidan.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4.1 Hasil Determinasi Sampel Batang <i>B. racemosa</i>	53
4.2 Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang <i>B. racemosa</i>	54
4.3 Rendemen Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang <i>B. racemosa</i>	55
4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang <i>B. racemosa</i>	56
4.5 Perhitungan DPPH dan Larutan Uji	59
4.6 Konsentrasi Pengujian Dalam Kuvet	63
4.7 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	65
4.8 Perhitungan persen peredaman DPPH dan IC_{50}	67
4.9 Hasil analisis dengan SPSS (<i>free trial</i>)	75

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan wilayah hutan yang cukup luas termasuk dengan banyaknya spesies tanaman. Tidak hanya tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pangan, namun juga terdapat banyak spesies tanaman obat. Menurut Sofowora (1996), tanaman obat merupakan tanaman yang mengandung bahan yang dapat digunakan untuk pengobatan. Sekitar 143 juta ha luas hutan tropik di Indonesia terdapat 80 % tanaman obat dari 28.000 spesies tanaman di seluruh dunia. Sebanyak 1.000 spesies tanaman dari jumlah tersebut telah digunakan sebagai obat (Qamariah dkk., 2018). Tanaman obat mampu memberikan aktivitas farmakologis karena mengandung senyawa aktif berupa metabolit sekunder. Metabolit sekunder ini dapat berperan dalam pengobatan salah satunya sebagai antioksidan.

Antioksidan adalah zat atau senyawa alami yang dapat melindungi sel dari kerusakan dan penuaan yang disebabkan oleh molekul reaktif atau radikal bebas (Lingga, 2012). Terbukti dalam penelitian-penelitian sebelumnya bahwa antioksidan mampu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan beberapa penyakit mulai dari ringan hingga berat yang dapat berujung pada kematian. Beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh radikal bebas yaitu penyakit alergi, infeksi, kemunduran fungsi otak, diabetes melitus, jantung koroner, hingga kanker (Lingga, 2012). Terdapat banyak tanaman yang dilaporkan memiliki potensi sebagai antioksidan dan salah satunya yaitu tanaman kepundung (Gunawan dkk., 2016).

Kepundung (*Baccaurea racemosa*) merupakan tanaman yang diklasifikasikan dalam genus *Baccaurea* dan famili *Euphorbiaceae*. Genus *Baccaurea* ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional seperti sembelit, pembengkakan pada mata, radang sendi, abses, sakit perut, memperlancar haid dan buang air kecil (Gunawan dkk., 2016). Beberapa riset terkait *Baccaurea racemosa* telah mulai dikembangkan. Berdasarkan penelitian sebelumnya terkait uji antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak metanol daun *Baccaurea racemosa* terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan

persen penghambatan sebesar $91,23 \pm 0,02$ % pada konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$, dengan konsentrasi DPPH 0,04 M (Wulansari dan Chairul, 2011). Kulit batang *Baccaurea racemosa* juga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $10,627 \pm 0,996$ $\mu\text{g/mL}$ pada DPPH 70 μM (Widodo dkk., 2019) dan memiliki kandungan fenolat cukup tinggi, yang berperan sebagai antioksidan (Gunawan dkk., 2016).

Penelitian terkait penemuan obat baru dari bahan alam telah banyak dilakukan, terutama pada tanaman tingkat tinggi seperti *Baccaurea racemosa*. Mulai dari bagian batang hingga daun telah diteliti aktivitasnya sebagai antioksidan dan antibakteri (Jumahwi, 2019; Widodo dkk., 2019). Jika ditelusuri lebih dalam, pada tanaman tingkat tinggi juga hidup organisme tingkat rendah di dalamnya yang jarang diketahui oleh masyarakat luas. Salah satu organisme tersebut adalah fungi endofit.

Menurut Tan dan Zou (2001), fungi endofit merupakan mikroorganisme jamur, yang menghabiskan seluruh atau sebagian siklus hidupnya untuk mengkolonisasi pada intra seluler di dalam jaringan sehat tanaman inang. Fungi endofit dapat dijumpai pada beberapa bagian tanaman di antaranya pada daun, batang, pucuk, dan akar (Hakim, 2017). Pemanfaatan fungi endofit dalam penemuan obat baru memiliki dampak positif diantaranya dapat mengurangi eksploitasi tanaman dalam jumlah besar akibat penggunaannya untuk ekstrak, sehingga cara ini juga mampu membantu pelestarian tanaman tersebut.

Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa atau metabolit sekunder yang dapat berperan penting bagi tubuh manusia seperti antioksidan. Jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit lebih besar dari kelas mikroorganisme endofit lainnya (Kaul dkk., 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa pestacin dan isopestacin, yang diperoleh dari cairan biakan *P. microspora*, suatu endofit yang diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis* dari Sungai Sepik di Papua Nugini, menunjukkan aktivitas antimikroba dan antioksidan. Isopestacin diduga memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan kemiripan strukturalnya dengan flavonoid (Strobel dan Daisy, 2003). Lingga (2012) menyebutkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang lebih potensial daripada sumber antioksidan lainnya.

Sejauh ini, terdapat beberapa penelitian terkait aktivitas antioksidan dari *Baccaurea racemosa* namun belum ada penelitian terkait ada tidaknya fungi endofit pada batang, golongan senyawa yang terkandung di dalamnya serta aktivitas antioksidannya. Pemilihan bagian batang dimaksudkan untuk mengetahui potensi bagian tumbuhan kependung yang jarang digunakan. Berdasarkan latar belakang, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fungi endofit pada batang kependung yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dengan spektrofotometer UV-Vis. Pemilihan metode ini didasarkan pada prosesnya yang lebih cepat karena memerlukan waktu inkubasi yang cukup singkat, sederhana, dan memerlukan sampel dalam jumlah sedikit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, muncul beberapa rumusan masalah antara lain:

1. Apakah terdapat fungi endofit pada batang tanaman *Baccaurea racemosa*?
2. Golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam fungi endofit batang tanaman *Baccaurea racemosa*?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit batang tanaman *Baccaurea racemosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui apakah terdapat fungi endofit pada batang tanaman *Baccaurea racemosa*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam fungi endofit batang tanaman *Baccaurea racemosa*.
3. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak etil asetat fungi endofit batang tanaman *Baccaurea racemosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kandungan golongan senyawa dalam fungi endofit batang tanaman *Baccaurea racemosa* yang dapat memberikan aktivitas antioksidan (IC₅₀) sebagai penangkal radikal bebas.
2. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antioksidan baru dari bahan alam pada organisme tingkat rendah seperti fungi endofit.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Radikal Bebas

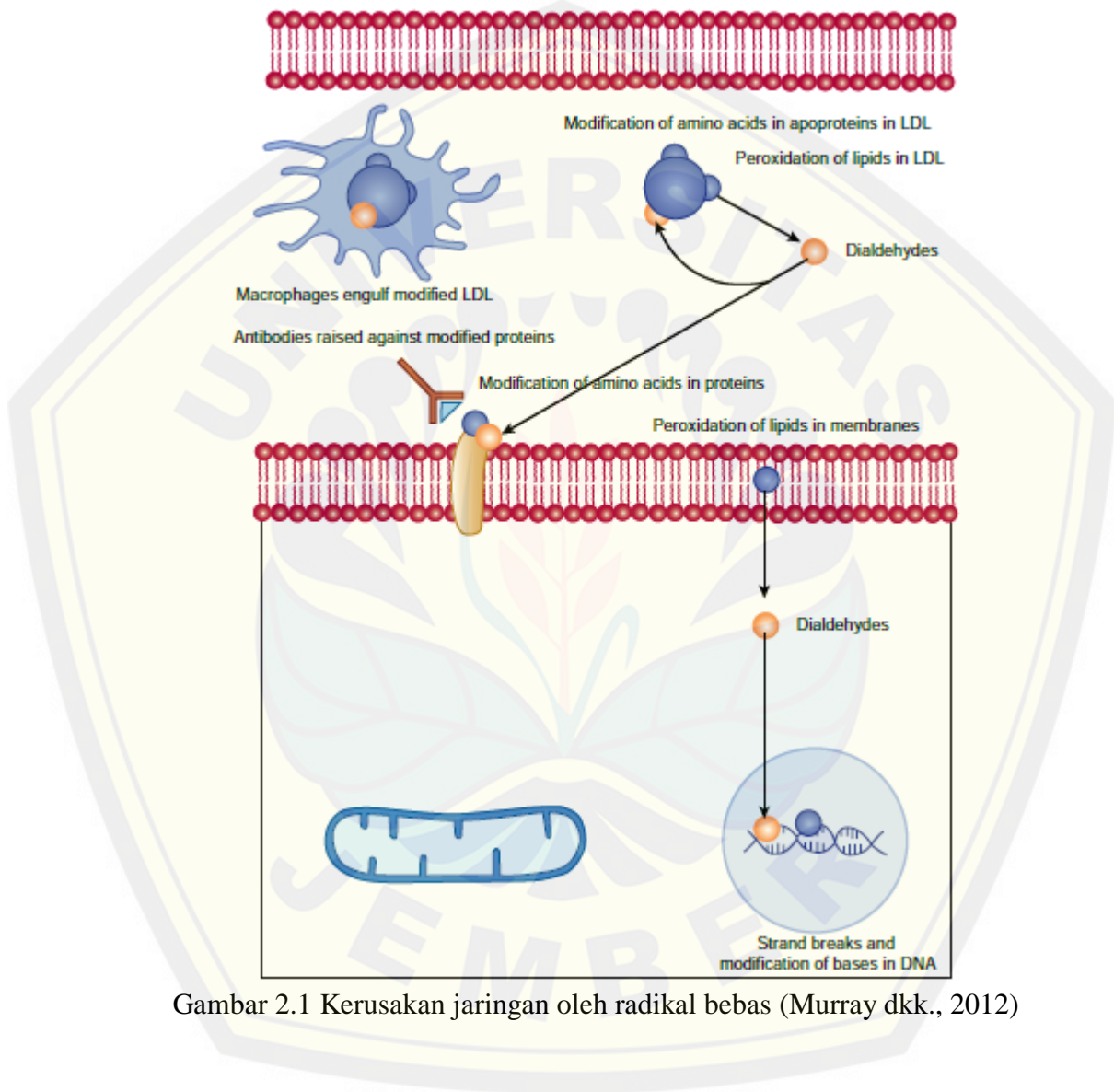
Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang jika teroksidasi dapat menyebabkan terbentuknya molekul baru yang dapat merusak tubuh, atau dapat juga diartikan sebagai atom yang memiliki elektron bebas yang tidak berpasangan (Lingga, 2012). Molekul radikal bebas berada pada kondisi tidak berpasangan hanya dalam waktu yang sangat singkat yaitu sekitar 10^{-9} sampai 10^{-12} detik hingga molekul ini berkoalisi atau berikatan dengan molekul lain untuk mencapai kondisi yang stabil. Molekul yang telah berikatan dengan radikal bebas akan membentuk radikal baru yang dapat membahayakan tubuh (Murray dkk., 2012).

Secara normal, tubuh akan memproduksi radikal bebas melalui proses metabolisme sel normal. Adanya radikal bebas di dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada komponen sel seperti asam nukleat, protein, lipid, dan lipoprotein plasma. Kerusakan-kerusakan tersebut mampu menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker, aterosklerosis, penyakit arteri koroner, dan penyakit autoimun (Murray dkk., 2012).

Radikal yang paling berbahaya bagi tubuh karena kemampuannya dalam merusak sistem biologis adalah radikal oksigen atau biasa disebut dengan oksigen reaktif. Radikal oksigen tersebut diantaranya superoksida (O_2^{\cdot}), hidroksil (OH^{\cdot}), dan perhidroksil (O_2H^{\cdot}). Sekitar 3-5 % dari 30 mol oksigen yang dikonsumsi orang dewasa setiap harinya tidak mengalami reduksi sempurna menjadi air, namun diubah menjadi radikal oksigen singlet, hidroksi peroksida, perhidroksil, dan hidroksil (Murray dkk., 2012).

Beberapa kerusakan yang dapat disebabkan oleh radikal bebas antara lain kerusakan DNA, lipid, dan protein. Basa DNA yang berikatan dengan radikal akan mengalami perubahan kimia yang jika tidak diperbaiki dapat diwariskan kepada keturunannya. Asam lemak tak jenuh di membran sel dan lipoprotein plasma yang mengalami kerusakan akibat radikal dapat membentuk peroksida lipid, dan aldehida yang sangat reaktif dapat memodifikasi protein dan basa-basa asam nukleat secara kimia. Jika protein berikatan langsung dengan radikal, maka protein juga dapat langsung mengalami kerusakan. Kerusakan akibat radikal

oksigen biasa disebut kerusakan oksidatif, dan faktor-faktor yang mampu melindungi sistem biologis terhadap kerusakan oksidatif dikenal sebagai antioksidan (Murray dkk., 2012). Mekanisme terjadinya kerusakan akibat radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Kerusakan jaringan oleh radikal bebas (Murray dkk., 2012)

2.2 Tinjauan Antioksidan

Lingga (2012) menyebutkan dalam bukunya bahwa antioksidan adalah zat atau senyawa alami yang dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan dan penuaan yang disebabkan oleh molekul reaktif atau disebut radikal bebas. Antioksidan

bekerja dengan menghambat reaksi oksidasi melalui pengikatan radikal bebas dan menjaga struktur kimia material genetik dalam sel agar tetap dalam kondisi normal.

Terdapat berbagai jenis antioksidan yang bekerja melalui berbagai macam cara. Setiap antioksidan dengan jenis yang berbeda memiliki mekanisme kerja yang berbeda pula. Beberapa mekanisme kerja dari antioksidan yaitu dengan cara mencegah terjadinya mutasi, mengeliminasi molekul yang rusak, mencegah terbentuknya molekul radikal, mereduksi molekul radikal sehingga tidak menjadi berbahaya, memperbaiki kerusakan oksidatif, meningkatkan aktivitas enzim detoksifikasi tahap ke-2 (Lingga, 2012).

Ketersediaan antioksidan di alam dapat dibedakan menjadi dua, yaitu antioksidan endogen yang secara alami diproduksi oleh tubuh atau juga disebut antioksidan primer, dan antioksidan eksogen yang terdiri dari antioksidan sekunder, antioksidan tersier, pengikat oksigen (*oxygen scavenger*), dan pengikat logam (*chelator* atau *sequestrans*) (Lingga, 2012).

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer bekerja dengan memperlemah reaksi molekul radikal agar tidak membentuk molekul radikal yang baru. Terdapat tiga macam antioksidan primer yang dihasilkan tubuh yakni enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GSH-Px), dan katalase.

b. Antioksidan Sekunder

Beberapa zat yang tergolong sebagai antioksidan sekunder yaitu vitamin A, C, dan E, serta zat-zat nirgizi seperti karotenoid, flavonoid, tanin, dan beberapa senyawa fitokimia lainnya. Zat-zat tersebut mampu membantu tubuh untuk menghindari terjadinya kerusakan sel yang lebih parah akibat paparan radikal bebas dengan menangkap dan mencegah terjadinya reaksi berantai pada radikal bebas.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan jenis ini mampu memperbaiki sel dan jaringan yang rusak akibat radikal bebas seperti perubahan struktur DNA terutama pada penderita

kanker. Enzim metionin sulfoksida merupakan antioksidan tersier yang tersedia di alam.

d. *Oxygen Scavenger*

Contoh *oxygen scavenger* ini yaitu vitamin C, yang mampu mengikat oksigen untuk mencegah terjadinya oksidasi.

e. *Chelator*

Chelator bekerja dengan mengikat logam yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi seperti zat besi (Fe). Contoh *chelator* antara lain asam sitrat dan asam amino.

2.3 Tinjauan Tanaman Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

2.3.1 Klasifikasi Taksonomi Tanaman

Kingdom	:	Plantae – Plants
Subkingdom	:	Tracheobionta – Vascular plants
Superdivisi	:	Spermatophyta – Seed plants
Divisi	:	Magnoliophyta – Flowering plants
Kelas	:	Magnoliopsida – Dicotyledons
Subkelas	:	Rosidae
Ordo	:	Euphorbiales
Famili	:	Euphorbiaceae – Spurge family
Genus	:	<i>Baccaurea</i> Lour. – <i>baccaurea</i> P
Spesies	:	<i>Baccaurea racemosa</i> (Reinw.) Müll. Arg.
Sinonim	:	<i>Baccaurea bhaswatii</i> Chakrab. & M.Gangop., <i>Baccaurea wallichii</i> Hook.f., <i>Coccomelia racemosa</i> Reinw. ex Blume (basionym), <i>Pierandia racemosa</i> (Reinw. ex Blume) Blume, <i>Pierardia racemosa</i> (Reinw. ex Blume) Miq.

(United States Department of Agriculture, 2019) dan (Tim, 2012)

Penampakan pohon, batang, buah, dan daun tanaman *Baccaurea racemosa* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



(a)

(b)



(c)

Gambar 2.2 (a) daun, (b) batang dan buah, (c) pohon tanaman *Baccaurea racemosa* (Tim, 2012)

2.3.2 Sebaran dan Nama Lokal Tanaman

Tanaman *Baccaurea racemosa* yang tergolong dalam famili Euphorbiaceae ini tersebar di berbagai wilayah seperti Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatra, Jawa, Kepulauan Sunda Kecil, Kalimantan (Sarawak, Brunei,

Sabah, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah dan Kalimantan Timur), Sulawesi, dan Maluku. Tanaman ini banyak dibudidayakan di daerah Sumatra, Jawa dan Bali (Tim, 2012).

Baccaurea racemosa memiliki beberapa nama lokal yang berbeda di setiap daerah diantaranya yaitu :

- 1) Belanda: Menteng
- 2) Prancis: Rambéh
- 3) Indonesia: Tangkilang, Kapundung (Bali), Haoundung, Ninggih (Batak, Sumatra), Kisip (Bengkoelen, Sumatra), Roesip, Kisip (Sumatra), Menteng, Kapundung, Jerek, Jirek (Jawa), Menteng, Rambai, Tampui (Lampung, Sumatra), Modung (Madura), Kapundueng (Minangkabau), Bowo (Nias), Bencoi (Varietas merah Sunda), Menteng (Varietas Putih Sunda), Kapundung, Kepundung (Singkep); Engkumi, Kayu Masam, Kokonau, Kunau, Kunyi, Longkumo, Moho Liox, Tunding Undang, Umbarian (Kalimantan)
- 4) Kalimantan - Brunei, Sarawak, Sabah, Kalimantan: Kokonau (Dusun), Kayu Masam, Engkumi, Kunau, Kokonau, Longkumo, Moho liox, Kunyi, Umbarian, Tunding undang
- 5) Semenanjung Malaysia: Asam Tambun, Kapunddung, Jinteh Merah, Rambai, Tamut, Tampoi.

2.3.3 Deskripsi Senyawa Fitokimia dalam Tanaman

Beberapa spesies dalam genus *Baccaurea* memiliki potensi sebagai tanaman obat dengan kandungan metabolit sekundernya, antara lain *B. racemosa*, *B. ramiflora*, *B. macrocarpa*, *B. lanceolata*, *B. motleyana*, *B. angulata*, *B. brevipes*, *B. polyneura*, *B. hookeri*, *B. dulcis*, *B. parviflora*, dan *B. sapida*, Metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai obat antara lain alkaloid, flavonoid, karotenoid, antosianin, tanin, asam rosmarinik dan fenolik (Gunawan dkk., 2016).

Pada penelitian sebelumnya, *Baccaurea racemosa* dilaporkan memiliki beberapa kandungan seperti protein, karbohidrat, vitamin C, dan kalsium (Ca), serta memiliki kadar fenolat yang tinggi dalam perannya sebagai antioksidan (Gunawan dkk., 2016). Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun *Baccaurea racemosa* juga dilaporkan positif memiliki kandungan metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, polifenol, dan terpenoid atau steroid (Jumahwi, 2019).

2.3.4 Penelitian Terkait Tanaman

Baccaurea racemosa merupakan tanaman yang telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Beberapa khasiat *Baccaurea racemosa* berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu dapat berkhasiat untuk mengobati sembelit, pembengkakan pada mata, radang sendi, abses, sakit perut, memperlancar haid dan buang air kecil (Gunawan dkk., 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Wulansari dan Chairul (2011) juga menyebutkan bahwa daun *Baccaurea racemosa* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan persen peredaman sebesar $91,23 \pm 0,02$ % pada konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$.

Daun dan kulit batang *Baccaurea racemosa* telah diteliti aktivitasnya oleh Widodo dkk. (2019) menggunakan metode DPPH (70 μM), TEAC, dan FRAP hingga didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 2.1 Aktivitas antioksidan daun dan batang *Baccaura racemosa*

Bagian tanaman	Metode		
	DPPH	TEAC	FRAP
	IC ₅₀ \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)	TEAC \pm SD ($\mu\text{M TE/100 } \mu\text{g}$)	FRAP <i>value</i> \pm SD (mM Fe ²⁺ /10 mg)
Daun	4,298 \pm 0,306	354,88 \pm 0,55	900,18 \pm 15,41
Kulit Batang	10,627 \pm 0,996	135,52 \pm 0,26	325,79 \pm 18,85

(Widodo dkk., 2019)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jumahwi (2019), ekstrak metanol daun *Baccaurea racemosa* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.*

aureus dan *P. aeruginosa* dengan kekuatan penghambatan yang dapat dilihat pada Tabel 2.2, sedangkan nilai IC₅₀ untuk aktivitas penangkalan radikal bebas dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.2 Aktivitas antibakteri *Baccaurea racemosa* terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2,5 mg/mL	6,39 ± 0,25	7,36 ± 0,10
5,0 mg/mL	7,71 ± 0,16	8,27 ± 0,18
7,5 mg/mL	7,98 ± 0,49	9,54 ± 0,13
10 mg/mL	9,66 ± 0,77	10,43 ± 0,13
20 mg/mL	9,71 ± 0,49	11,25 ± 0,45

Tabel 2.3 Nilai IC₅₀ Aktivitas Penangkalan Radikal Bebas Daun *Baccaurea racemosa*

Substansi Uji	IC ₅₀ (µg/mL)
Kuersetin	1,753 ± 0,0522
Ekstrak metanol	4,813 ± 0,1745
Fraksi heksana	22,72 ± 0,3883
Fraksi diklorometana	16,43 ± 0,1029
Fraksi etil asetat	2,795 ± 0,0272

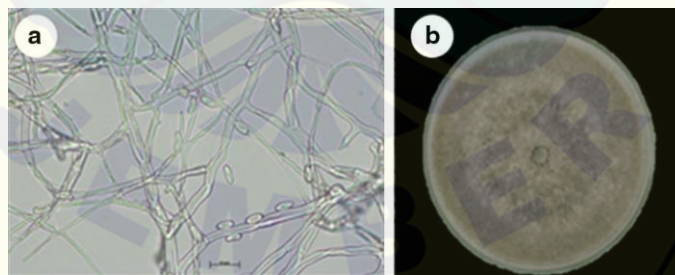
(Jumahwi, 2019)

2.4 Tinjauan Fungi Endofit

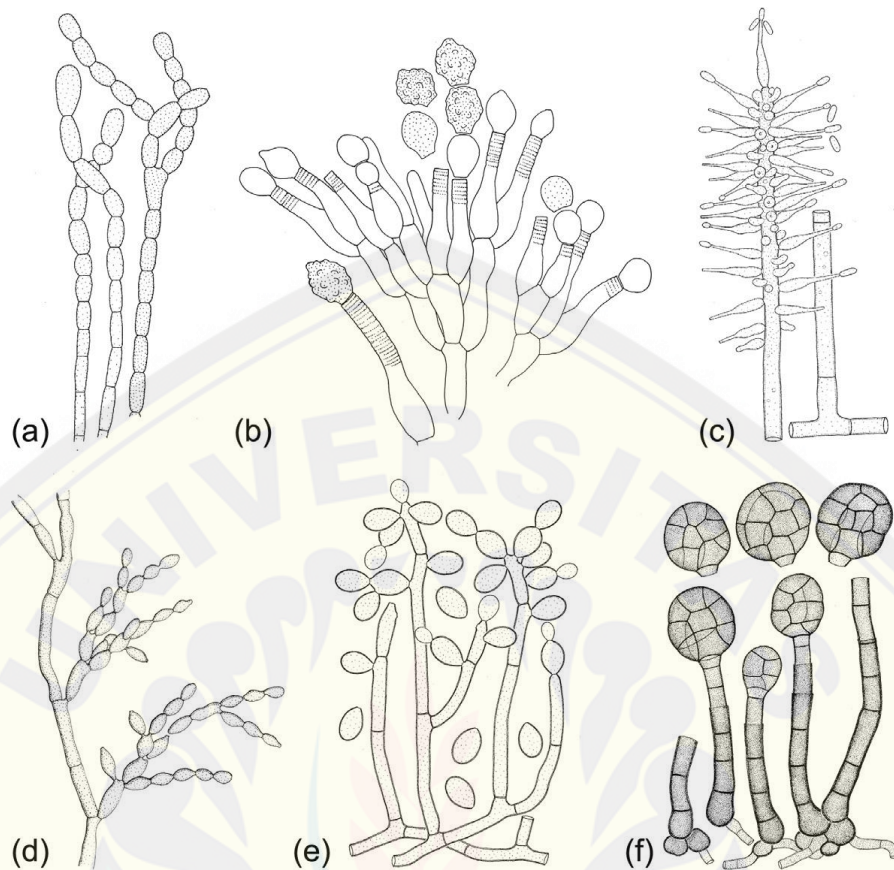
Secara terminologi, endofit berasal dari kata *endon* yang berarti ‘dalam’ dan *pyton* yang berarti ‘tanaman’ (Hakim, 2017). Sejak penemuan endofit di Darnel, Jerman, pada tahun 1904, berbagai peneliti telah mendefinisikan endofit dengan cara yang berbeda, dan biasanya tergantung pada perspektif dari mana endofit diisolasi dan kemudian diteliti. Bacon dan White memberikan definisi endofit yang inklusif dan diterima secara luas dimana endofit merupakan mikroba yang menempati jaringan internal tanaman hidup tanpa menyebabkan efek negatif

secara langsung (Strobel dan Daisy, 2003). Baik jamur maupun bakteri, keduanya adalah mikroba yang paling umum ditemukan sebagai endofit. Tidak hanya itu, mikroba lainnya, seperti mikoplasma dan archaeobacteria juga dianggap akan selalu ada pada tumbuhan sebagai endofit, namun belum terdapat bukti yang menunjukkannya. Berdasarkan pada penelitian sebelumnya, jenis endofit yang paling sering diisolasi adalah fungi endofit (Strobel dan Daisy, 2003).

Fungi endofit adalah mikroorganisme jamur, yang menghabiskan seluruh atau sebagian siklus hidupnya untuk mengkolonisasi pada intraseluler di dalam jaringan sehat tanaman inang (Tan dan Zou, 2001). Morfologi fungi endofit dapat diamati secara makroskopis maupun mikroskopis. Beberapa bagian yang dapat diamati dari pengamatan makroskopis yaitu adanya miselia atau kumpulan dari beberapa hifa (Ngatirah, 2017), sedangkan secara mikroskopis dapat diamati beberapa bagian seperti septa pada hifa, konidia, dan konidiofor (Vashishta dkk., 2016). Septa adalah sekat yang terdapat pada hifa, dan hifa adalah benang-benang filamen halus yang terdapat pada fungi (McKinney, 2004). Konidia adalah spora aseksual yang dihasilkan oleh fungi pada hifa tertentu yang disebut konidiofor (Vashishta dkk., 2016). Contoh visualisasi fungi endofit secara mikroskopis dan makroskopis dapat dilihat pada Gambar 2.3, sedangkan beberapa macam konidia dan konidiofor dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 (a) Gambaran mikroskopis hifa dan spora/konidia fungi yang diisolasi dari *Trichilia elegans*, (b) makroskopis fungi yang diisolasi dari *Trichilia elegans*
sumber : (Corrêa dkk., 2014)

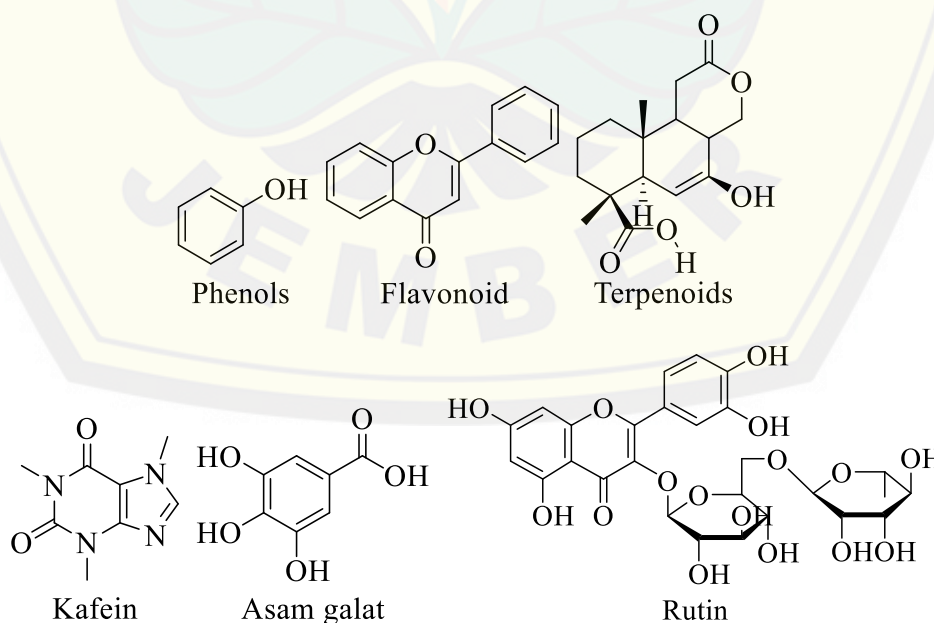


Gambar 2.4 Contoh konidia dari *ascomycetes*. (a) *Basipetospora variabilis*, (b) *Scopulariopsis brevicaulis*, (c) *Harziella (Lepisticola) capitata*, (d) *Tyrannosorus pinicola*, (e) *Haplotrichum chilense*, (f) *Junewangia globulosa*. Sumber : (Watkinson dkk., 2015)

Fungi endofit tidak hanya menumpang hidup pada inangnya, namun juga memiliki manfaat bagi tanaman inang melalui simbiosis mutualisme. Proses ini ditunjang dengan adanya kandungan metabolit sekunder, fitohormon, nutrisi, dan elicitin dalam fungi endofit. Metabolit sekunder fungi endofit memberikan peran dalam proteksi tanaman terhadap mikroba antagonis dan predator, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Fitohormon dan nutrisi pada fungi endofit juga berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Kandungan elicitin pada fungi endofit memiliki peran dalam meningkatkan ketahanan sistemik dan mekanik tanaman. Fungi endofit yang membentuk koloni juga berperan dalam peningkatan ketahanan sistemik dan mekanik dari tanaman, pertahanan metabolik tanaman, serta toleransi terhadap *stress* (Hakim, 2017).

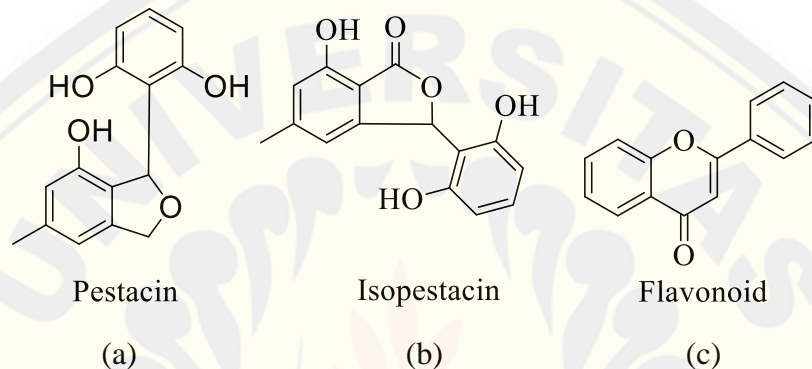
Mikroba endofit, termasuk fungi endofit memiliki peran penting di bidang bioteknologi dalam pengembangan obat herbal di Indonesia. Beberapa peran tersebut yaitu sebagai antioksidan, antibiotik, antivirus, antikanker, antimalaria, antidiabetes, dan immunosupresan (Radji, 2005). Fungi endofit dalam perannya sebagai antioksidan mampu menghasilkan senyawa atau metabolit sekunder yang berperan penting bagi tubuh manusia. Jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit lebih besar dari kelas mikroorganisme endofit lainnya (Kaul dkk., 2012).

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh tanaman melalui jalur biosintesis untuk bertahan hidup, namun bukan merupakan senyawa esensial karena tumbuhan tersebut masih dapat hidup tanpa adanya senyawa ini (Saifudin, 2014). Sharma dkk (2016) menyebutkan dalam penelitiannya bahwa fungi endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder seperti halnya tanaman inangnya. Fungi endofit pada tanaman cemara *Cupressus torulosa* juga dilaporkan mampu menghasilkan metabolit aktif yang mengandung golongan senyawa seperti fenol, flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin, karbohidrat, dan saponin (Sharma dkk., 2016). Contoh struktur dari golongan senyawa tersebut dapat diamati pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Contoh struktur metabolit sekunder fungi endofit (Schulz dkk., 2002; Drahansky dkk., 2016)

Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa pestacin dan isopestacin, yang diperoleh dari cairan biakan *P. microspora*, suatu endofit yang diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis* dari Sungai Sepik di Papua Nugini, menunjukkan aktivitas antimikroba dan antioksidan. Isopestacin diduga memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan kemiripan strukturalnya dengan flavonoid (Strobel dan Daisy, 2003). Struktur kimia dari pestacin, isopestacin, dan flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 (a) struktur pestacin, (b) struktur isopestacin, (c) struktur flavonoid (Xu dkk., 2010)

Penelitian yang dilakukan oleh Schulz dkk. (2002) menyebutkan bahwa fungi endofit memiliki aktivitas yang lebih poten jika dibandingkan dengan fungi tanah. Sekitar 80% isolat fungi endofit mampu menghambat setidaknya satu dari organisme uji untuk aktivitas antibakteri, fungisida, algisida atau herbisida (Schulz dkk., 2002). Pada penelitian yang dilakukan oleh Wiyakrutta dkk. (2004), 92 ekstrak dari isolat fungi endofit tanaman obat Thailand mampu menghambat *Mycobacterium tuberculosis* (MIC 0,0625-200 $\mu\text{g/mL}$) ketika diuji dengan *microplate Alamar blue*, selain itu enam ekstrak lainnya juga mampu menghambat *Plasmodium falciparum* (IC_{50} 1,2-9,1 $\mu\text{g/mL}$) yang ditentukan dengan metode penggabungan [^3H] hipoksantin. Aktivitas antivirus yang kuat terhadap virus Herpes simplex tipe 1 juga teramati pada 40 isolat (IC_{50} 0,28-50 $\mu\text{g/mL}$). Uji sulphorhodamine B yang dilakukan untuk melawan aktivitas sel kanker juga mengungkapkan bahwa 60 isolat memiliki aktivitas terhadap sel karsinoma epidermoid oral manusia (EC_{50} 0,42-20 $\mu\text{g/mL}$) dan 48 isolat memiliki

aktivitas terhadap sel kanker payudara (EC_{50} 0,18-20 $\mu\text{g/mL}$) (Wiyakrutta dkk., 2004).

2.5 Tinjauan Terkait Isolasi, Fermentasi, dan Ekstraksi Fungi Endofit

2.5.1 Isolasi Fungi Endofit

Isolasi fungi endofit yaitu proses memisahkan fungi dari inangnya. Isolasi fungi endofit dilakukan untuk memisahkan fungi dari mikroorganisme endofit lain maupun mikroorganisme epifit yang ada di lingkungannya, sehingga diperoleh biakan fungi murni atau biakan yang tidak tercampur dengan biakan lainnya (Ariyanti, 2018). Proses isolasi ini membutuhkan media untuk mengisolasi dan menumbuhkan fungi. Media yang bisa digunakan untuk mengisolasi fungi adalah media *Rose Bengal Agar Base* (Liofilchem, 2013), sedangkan untuk menumbuhkannya biasa digunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). *Rose Bengal Agar Base* adalah media basal yang digunakan dengan suplemen selektif untuk isolasi dan penghitungan khamir dan kapang, sedangkan PDA adalah media yang mengandung karbohidrat dalam jumlah memadai yang terdiri dari ekstrak kentang dan glukosa yang baik untuk pertumbuhan khamir dan kapang karena mampu memberikan nutrisi yang cukup untuk khamir dan kapang (Ariyanti, 2018).

2.5.2 Fermentasi Fungi Endofit

Fermentasi adalah istilah yang digunakan oleh ahli mikrobiologi untuk menggambarkan proses apa pun untuk memproduksi suatu produk melalui kultur massa mikroorganisme. Produk yang dimaksud yaitu produk biomassa atau sel itu sendiri, metabolit mikroorganisme, dan produk asing mikroorganisme atau produk teknologi DNA rekombinan. Fermentasi dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan *batch fermentation*, *fed batch fermentation*, dan *continuous fermentation* (Pumphrey dan Julien, 1996).

Batch fermentation dapat juga disebut sebagai sistem tertutup. Proses ini dilakukan dengan memasukkan larutan nutrisi/media yang telah disterilkan ke dalam *fermentor* kemudian diinokulasi dengan mikroorganisme dan diinkubasi.

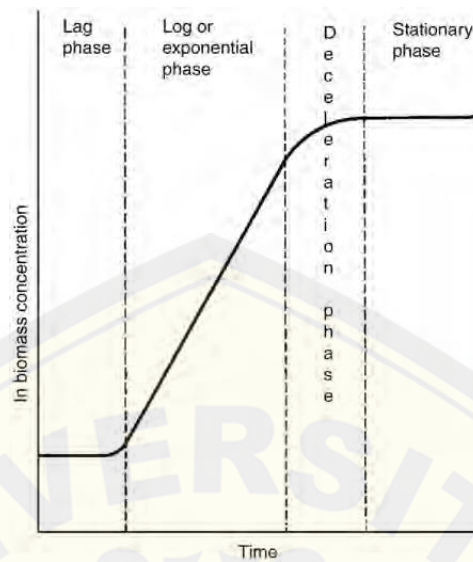
Sistem ini disebut sebagai sistem tertutup karena selama proses fermentasi, tidak ada yang ditambahkan, kecuali oksigen (dalam hal mikroorganisme aerob), agen antifoam, dan asam atau basa untuk mengontrol pH. Komposisi dari media kultur, konsentrasi biomassa, dan konsentrasi metabolit umumnya berubah secara konstan sebagai akibat dari metabolisme sel (Pumphrey dan Julien, 1996).

Fed batch fermentation juga bisa disebut dengan proses peningkatan batch tertutup, yaitu dalam proses *fed-batch* ini substrat ditambahkan secara bertahap seiring fermentasi berlangsung. Pada metode *fed-batch* ini media ditambahkan dalam konsentrasi kecil pada awal fermentasi dan zat-zat ini terus ditambahkan dalam dosis kecil selama fase produksi (Pumphrey dan Julien, 1996).

Continuous fermentation juga disebut dengan sistem terbuka. Larutan nutrisi/media steril ditambahkan ke *fermentor* secara terus menerus dalam jumlah yang setara dengan hasil fermentasi yang dikeluarkan. Hal ini menunjukkan kondisi *steady state*, pertumbuhan sel dikontrol dengan menyesuaikan konsentrasi satu substrat (Pumphrey dan Julien, 1996).

Fermentasi fungi endofit dapat diartikan sebagai proses penarikan semua kandungan metabolit fungi, terutama metabolit sekunder dari fungi endofit yang memiliki potensi dalam penemuan obat baru. Proses fermentasi pada penelitian ini menggunakan sistem tertutup atau *batch fermentation* karena meminimalisir kemungkinan adanya kontaminasi dengan adanya penambahan media pada sistem. Skema pertumbuhan fungi dapat dilihat pada Gambar 2.7.

Media fermentasi yang digunakan yaitu media PDB (*Potato Dextrose Broth*). PDB merupakan media yang biasa digunakan untuk menumbuhkan fungi dan dengan kandungan ekstrak kentang serta glukosanya PDB mampu memberikan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan fungi endofit (Ariyanti, 2018).



Gambar 2.7 Skema pertumbuhan fungi pada metode batch fermentation (Sumber : Stanbury dkk., 2016)

2.5.3 Ekstraksi Fungi Endofit

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan tertentu dari campurannya dengan pelarut yang sesuai (Yuliani dan Satu, 2012). Beberapa metode yang umum digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain metode maserasi, infusa, perkolasi, dekok, *Soxhlet extraction* atau *hot continuous extraction*, *Microwave Assisted Extraction (MAE)*, dan *Ultrasound-assisted extraction (UAE)* atau sonikasi. Metode lain seperti *Accelerated Solvent Extraction (ASE)* atau ekstraksi dengan pelarut dipercepat, dan *Supercritical Fluid Extraction (SFE)* atau ekstraksi fluida superkritis juga dapat digunakan untuk ekstraksi bahan alam (Azwanida, 2015). Proses ekstraksi umumnya dilanjutkan dengan proses pemisahan senyawa yang biasa disebut fraksinasi.

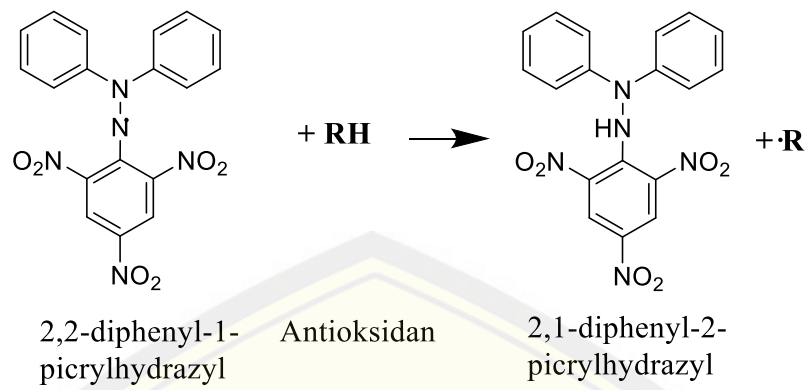
Beberapa metode fraksinasi yang dapat dilakukan diantaranya ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), *size-exclusion chromatography (SEC)*, kromatografi kolom (KK), dan *solid-phase extraction (SPE)* (Cannel, 1998; Mukhriani, 2011). Proses yang umum digunakan dalam ekstraksi fungi endofit yaitu fraksinasi partisi cair cair dengan pelarut etil asetat (Kjer dkk., 2010).

2.6 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan

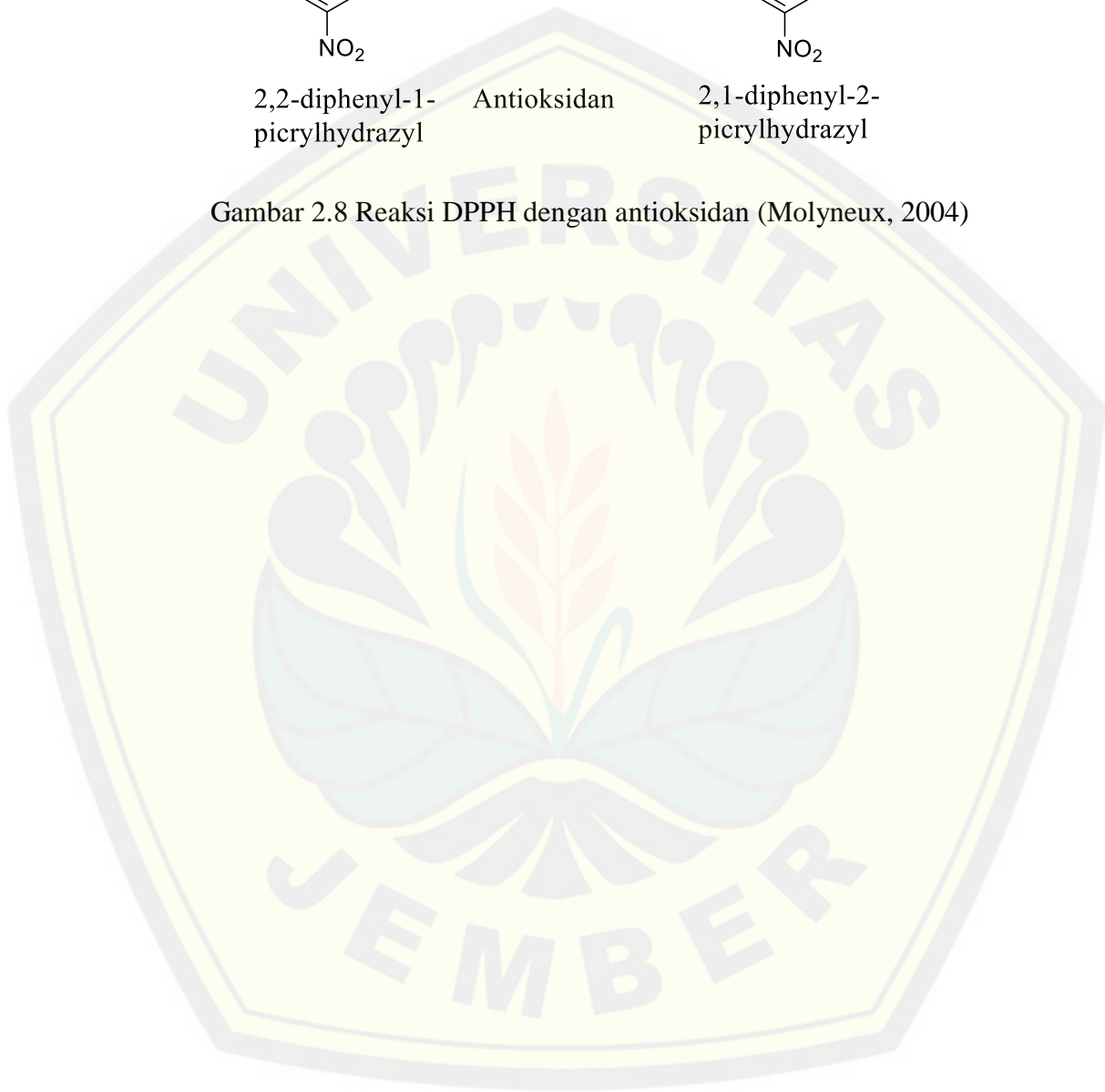
Proses menetapkan aktivitas antioksidan terdapat berbagai macam metode yang dapat digunakan, yaitu dengan prinsip spektrometri, teknik elektrokimia, dan kromatografi. Beberapa metode dengan prinsip spektrometri yaitu metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*); ABTS (*2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*); FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*); PFRAP (*Potassium Ferricyanide Reducing Power*); CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Power*); ORAC (*Oxygen Radical Absorption Capacity*); HORAC (*Hydroxyl Radical Averting Capacity*); TRAP (*Total Peroxyl Radical Antioxidant Parameter*), dan *Flourimetry*. Metode uji yang menggunakan prinsip teknik elektrokimia diantaranya *Cyclic voltammetry*, *Amperometry*, dan *Biamperometry*, sedangkan yang menggunakan prinsip kromatografi yaitu *Gas chromatography*, *High performance liquid chromatography* (Pisoschi dan Negulescu, 2012).

Metode uji antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH. DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) adalah radikal bebas stabil yang mengalami delokalisasi cadangan elektron pada keseluruhan molekul. Hal ini menyebabkan DPPH tidak membentuk senyawa dimer, seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas. Delokalisasi pada molekul DPPH menentukan kemunculan warna ungu, dengan pita serapan maksimum sekitar 520 nm (Pisoschi dan Negulescu, 2012).

DPPH yang bereaksi dengan donor hidrogen, akan menyebabkan DPPH tereduksi dan disertai hilangnya warna ungu. Pengurangan absorbansi secara linear dipengaruhi oleh konsentrasi antioksidan. Metode spektrofotometri dengan DPPH ini dapat diterapkan untuk penentuan kapasitas antioksidan dalam jus buah dan ekstrak buah (Pisoschi dan Negulescu, 2012). Reaksi antara DPPH dan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004)



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan untuk penelusuran dan isolasi fungi endofit batang kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) serta penetapan aktivitas antioksidan ini yaitu *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Medisinal, Kimia Analisis, dan Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Mei 2019 hingga Maret 2020.

3.3 Variabel Penelitian

Variable penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut :

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .

3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode isolasi fungi, fermentasi, dan ekstraksi fungi endofit; media yang digunakan; dan metode uji antioksidan.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Ekstrak etil asetat adalah ekstrak atau hasil penarikan metabolit sekunder fungi endofit hasil fermentasi menggunakan pelarut etil asetat.
2. Fermentasi fungi endofit dilakukan untuk memproduksi metabolit sekunder dari fungi endofit tersebut.
3. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan bantuan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menghitung konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀).

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Peralatan yang digunakan yaitu Autoklaf (B-One), neraca analitik (Ohaus), *hot plate* (Heidolph), *Laminar Air Flow* (Thermo Scientific), *shaker incubator* (B-One), destilator (Electrothermal), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi), mikroskop cahaya (Olympus), cawan petri, jarum ose, seperangkat alat gelas, aluminium foil, kertas saring, *plastic wrap*, corong pisah, vial, mikro pipet, mikro tube, mikro tip.

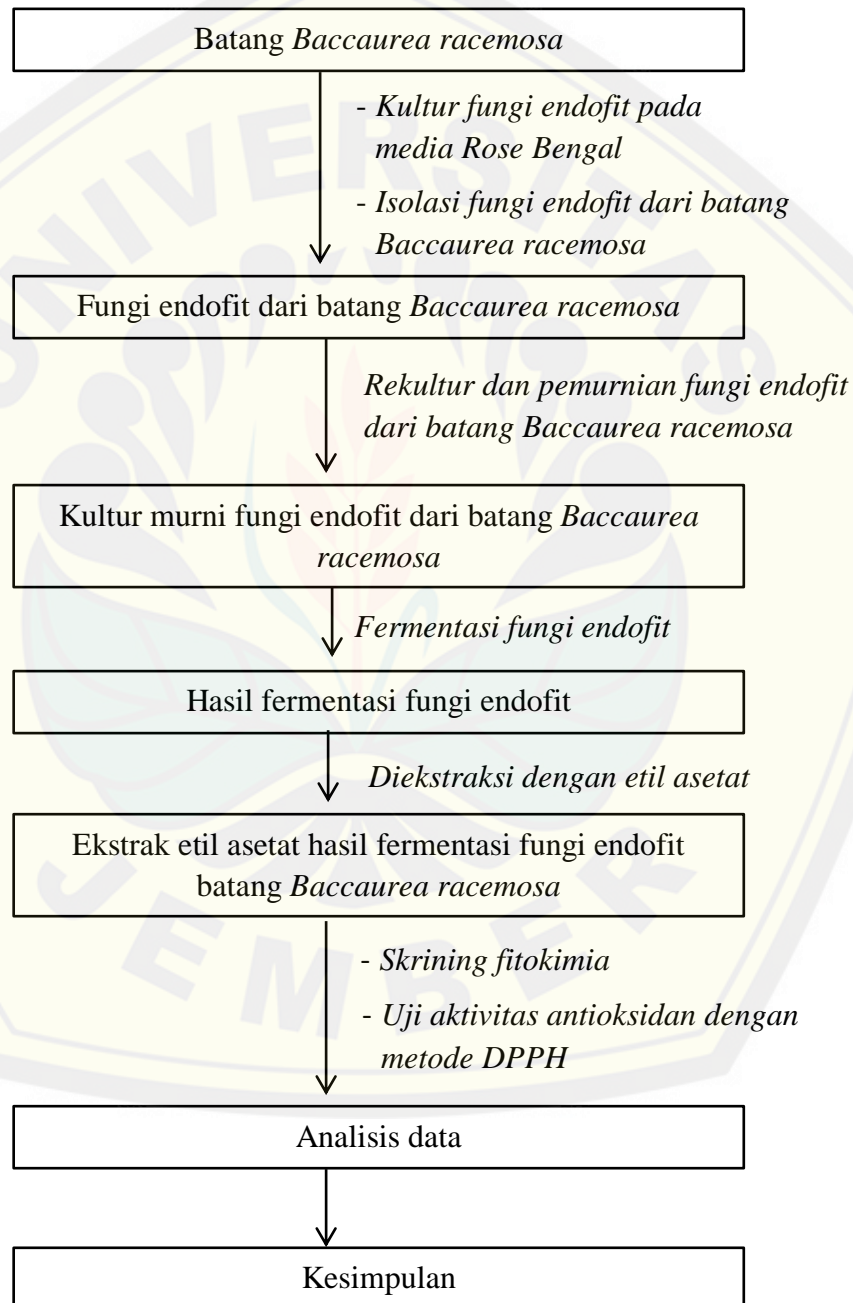
3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu batang *Baccaurea racemosa* yang diambil dari petani Desa Banjarsengon Kecamatan Sukorambi Kabupaten Jember, akuades steril, akuadestilata, larutan NaOCl 1 % (Bayclin), media *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid), media *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Himedia), media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar Base* (Oxoid), etil asetat terdestilasi (Merck), senyawa DPPH / 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (Sigma-Aldrich), kuersetin / 2- (3, 4 - Dihydroxyphenyl) - 3, 5, 7 - trihydroxy - 4H - 1 - benzopyran - 4 - one, 3, 3', 4' ,5 ,6 - Pentahydroxyflavone (Sigma-Aldrich), asam galat/3,4,5-

trihydroxybenzoic acid (Sigma-Aldrich), berberin/ 9,10-dimethoxy-5,6-dihydro-(1,3)dioxolo(4,5-g)isoquinolino(3,2-a)isoquinolin-7-ium (Sigma-Aldrich).

3.6 Rancangan Penelitian

Skema prosedur penelitian ini yaitu sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema Penelitian

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.7.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media yang digunakan untuk menumbuhkan fungi endofit pada penelitian ini yaitu PDA. Pembuatan media dapat dilakukan dengan melarutkan 9,75 g PDA dalam 250 mL akuadestilata. Selanjutnya media dipanaskan di atas *hot plate* hingga larut dan jernih, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.7.3 Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth* (PDB)

PDB merupakan media yang digunakan pada proses fermentasi fungi endofit. Sebanyak 2,4 g PDB dilarutkan dalam 150 mL akuadestilata hingga larut atau benar-benar jernih. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.7.4 Pembuatan Media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar Base*

Media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar Base* merupakan media yang digunakan pada tahap isolasi fungi endofit agar mikroorganisme endofit yang tumbuh selektif untuk fungi dan bakteri tidak dapat tumbuh. Media ini dapat dibuat dengan cara melarutkan 7,91 g *Rose Bengal Chloramphenicol Agar* dalam 250 mL akuadestilata dan dipanaskan hingga larut atau jernih. Selanjutnya media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.7.5 Isolasi Fungi Endofit dari Batang *Baccaurea racemosa*

Metode isolasi yang digunakan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Khan dkk. (2010) dengan modifikasi. Batang atau ranting tanaman *Baccaurea racemosa* yang dalam kondisi sehat dan segar dipotong secukupnya dan dibersihkan dengan air mengalir agar tidak ada kotoran yang menempel. Selanjutnya bagian tersebut direndam dalam larutan berikut berturut-turut etanol 70% (1 menit), NaOCl 1% (3 menit), etanol 70% (1 menit) lagi, lalu dibilas dengan mengalirkan aquades steril dua kali sirkulasi. Setiap pergantian perlakuan, bagian tanaman tersebut dikeringkan dengan tisu, dan semua perlakuan tersebut dilakukan secara aseptis dibawah LAF. Bagian batang yang telah melalui tahapan tersebut dipotong kurang lebih 1,5 – 2 cm dan disayat secukupnya pada bagian tepi dengan posisi diagonal (antara membujur dan melintang). Bagian yang sudah disayat diletakkan pada permukaan media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar* di cawan petri dan diamati setelah beberapa hari hingga nampak pertumbuhan jamur.

3.7.6 Pemurnian Fungi Endofit

Fungi hasil isolasi dimurnikan dengan memindahkan atau mengkultur satu potong fungi menggunakan ose pada media PDA agar didapatkan fungi tunggal dan murni berdasarkan morfologinya. Pertumbuhan fungi diamati setiap hari untuk membandingkan hasil fungi yang tumbuh dengan fungi sebelumnya dan memastikan tidak ada kontaminasi pada fungi.

3.7.7 Fermentasi

Fungi yang sudah murni difermentasi dengan memasukkan tiga potong kultur fungi endofit tersebut ke dalam 150 mL larutan PDB secara aseptis, lalu diletakkan di atas *shaker incubator* selama 14 hari dengan kecepatan 125 rpm pada suhu ruang (sekitar 28°C) untuk menjaga aerasi. Proses ini juga dimaksudkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari fungi endofit tersebut.

3.7.8 Ekstraksi

Pengambilan metabolit sekunder pada fungi dilakukan dengan cara ekstraksi hasil fermentasi fungi endofit. Hasil fermentasi fungi, yaitu media fermentasi yang telah dipisahkan dari funginya dengan cara disaring, diekstraksi menggunakan etil asetat. Ekstraksi dilakukan dengan menambahkan etil asetat 1:1 dan dilakukan partisi sebanyak dua kali. Hasil ekstraksi yaitu zat yang terlarut dalam etil asetat. Ekstrak tersebut kemudian diuapkan dalam lemari asam hingga pelarut menguap seluruhnya. Setelah seluruh pelarut menguap, ekstrak ditimbang bobotnya (untuk menghitung rendemen) dan disimpan.

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak hasil fermentasi (g)}}{\text{Volume fermentasi (mL)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

3.7.9 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya kandungan golongan senyawa fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid/steroid pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit batang *Baccaurea racemosa*. Pengujian dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄. Setiap ekstrak hasil fermentasi fungi endofit batang *Baccaurea racemosa* ditotolkan pada plat KLT dengan konsentrasi seragam. Pada masing-masing uji juga ditotolkan berbagai kontrol positif, antara lain asam galat pada uji fenolat, berberin pada uji alkaloid, dan kuersetin pada uji flavonoid, sedangkan untuk golongan senyawa terpenoid/steroid tidak digunakan kontrol positif. Setelah penotolan selesai, plat KLT dieluasi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (10:1:0,5) dan disemprot dengan penampak noda spesifik sebagai berikut (Wagner dan Bladt, 1996):

a. Uji Fenolat

Disemprotkan larutan FeCl₃ dan hasil dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna larutan menjadi biru kehitaman atau ungu.

b. Uji Alkaloid

Disemprotkan penampak noda Dragendorff pada plat, dan hasil positif mengandung alkaloid jika timbul warna jingga.

c. Uji Flavonoid

Plat KLT disemprot dengan larutan NH_4OH . Jika nampak warna kuning intensif, maka menunjukkan adanya flavonoid.

d. Uji Terpenoid/steroid

Jika setelah disemprot dengan penampak noda vanilin H_2SO_4 nampak warna ungu, maka hasil positif adanya golongan terpenoid dan steroid. Pengamatan intensitas warna pada skrining fitokimia didasarkan pada kepekatan warna yang dapat diamati.

3.7.10 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang

Baccaurea racemosa

a. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 2 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 50 mL metanol sehingga didapatkan konsentrasi 0,1 mM (Molyneux, 2004). Larutan tersebut disimpan dalam botol gelap dan dibuat ulang pada setiap pengujian.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebelum pengujian antioksidan dilakukan, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum yaitu dengan memipet 0,8 mL larutan DPPH 0,1 mM, dan ditambahkan dengan 0,2 mL metanol. Campuran dihomogenkan dengan cara dikocok lalu diinkubasi pada suhu ruang dan tempat gelap selama 30 menit (Molyneux, 2004). Selanjutnya campuran tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya pada 400-600 nm.

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Setiap ekstrak yang diperoleh ditimbang sejumlah tertentu dan dilarutkan dalam metanol untuk mendapatkan larutan induk. Ekstrak BK1 ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 1 mL metanol, sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 5.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan induk selanjutnya diencerkan dengan memipet sejumlah tertentu hingga diperoleh seri konsentrasi 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 3.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Sebanyak 5 mg BK2 dilarutkan dalam 1 mL metanol dan diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 5.000 µg/mL. Pengenceran yang dilakukan untuk ekstrak BK2 yaitu 250 µg/mL, 500 µg/mL, 1.000 µg/mL, 1.500 µg/mL, 2.000 µg/mL, dan 2.500 µg/mL. Larutan induk BK3 diperoleh dari penimbangan 1 mg ekstrak BK3 yang dilarutkan dengan metanol 1 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1.000 µg/mL. Larutan induk selanjutnya diencerkan menjadi 100 µg/mL, 125 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, 250 µg/mL, dan 300 µg/mL. Absorbansi yang digunakan untuk menganalisis kadar larutan uji yaitu sebesar 0,2 – 0,8 (Suhartati, 2017).

d. Pembuatan Larutan Uji Kuersetin

Sebanyak 2 mg serbuk kuersetin dilarutkan dalam 10 mL metanol, didapatkan konsentrasi induk sebesar 200 µg/mL. Larutan induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 4 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, dan 30 µg/mL, dengan memipet sejumlah tertentu dari larutan induk.

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak dan kuersetin

Dipipet 0,2 mL masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan uji kuersetin, lalu ditambahkan 0,8 mL larutan DPPH 0,1 mM dan dicampurkan hingga homogen. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum.

f. Perhitungan Nilai IC₅₀

Penentuan nilai IC₅₀ dapat dilakukan dengan menghitung persentase peredaman radikal DPPH dari masing-masing larutan sampel dengan persamaan sebagai berikut (Ghosal dan Mandal, 2012):

$$\% \text{ Inhibisi DPPH} = \frac{\text{Abs X} - \text{Abs Y}}{\text{Abs X}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

Keterangan :

Abs X = absorbansi radikal DPPH (blanko) pada panjang gelombang maksimum

Abs Y = absorbansi serapan sampel dalam DPPH pada panjang gelombang maksimum

Persentase peredaman yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi yang diperoleh digunakan untuk perhitungan secara regresi linear dengan persamaan :

$$y = a + bx \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan :

y = persentase peredaman (%)

x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan parameter IC_{50} (*Inhibitory concentration 50%*), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50, atau dapat disederhanakan dalam persamaan berikut :

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b} \dots \dots \dots (3.4)$$

3.7.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan membandingkan aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari semua ekstrak fungi endofit. Tahapan yang pertama yaitu dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan *One Way ANOVA*. Jika data terdistribusi tidak normal atau tidak homogen, maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Jika setelah ditransformasi data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan *One Way ANOVA*. Analisis data dalam penelitian ini menggunakan *One Way ANOVA* karena jumlah kelompok data merupakan data yang tidak berpasangan dan lebih dari dua. Jika data telah signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Data dianggap memiliki perbedaan yang signifikan apabila $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang telah dibahas sebelumnya, maka diperoleh kesimpulan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Pada batang tanaman *Baccaurea racemosa* terdapat tiga fungi endofit yang berhasil diisolasi, dan diberikan kode BK1, BK2, BK3.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam fungi endofit batang *Baccaurea racemosa* adalah fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid/steroid.
3. Aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit batang *Baccaurea racemosa*urut dari yang tertinggi hingga terendah yaitu BK3, BK2, dan BK1. Fungi BK3 memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $28,581 \pm 1,103 \mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian ini yaitu :

1. Perlu dilakukan analisis filogenetik fungi endofit hasil isolasi dari batang *Baccaurea racemosa* agar dapat ditentukan spesies dari masing-masing fungi.
2. Perlu penelitian lebih lanjut terkait penelusuran dan isolasi senyawa yang mampu berperan sebagai antioksidan.
3. Perlu dilakukan analisis kuantitatif dari kadar golongan senyawa hasil skrining fitokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyeni, Y. 2013. Jenis-Jenis Jamur pada Pembusukan Buah Kakao (*Theobroma cacao*, L.) di Sumatera Barat. *Jbioua.Fmipa.Unand.Ac.Id.* 2(2):124–129.
- Aly, A. H., A. Debbab, J. Kjer, dan P. Proksch. 2010. Fungal Endophytes from Higher Plants: A Prolific Source of Phytochemicals and Other Bioactive Natural Products. *Fungal Diversity*. 41:1–16.
- Antony, M., D. B. Menon, J. James, M. S. Lipin Dev, K. Arun, dan V. Thankamani. 2011. Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Alstonia scholaris*. *Pharmacognosy Journal*. 3(26):13–18.
- Anwar, H., G. Hussain, dan I. Mustafa. 2012. Antioxidants from Natural Sources. *Intech. i(tourism)*:13.
- Ariyanti, N. D. 2018. Penelusuran dan Isolasi Fungi Endofit Tanaman Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dan Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Jember.
- Azwanida. 2015. A Review on The Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- Bilal, S., L. Ali, A. L. Khan, R. Shahzad, S. Asaf, M. Imran, S. M. Kang, S. K. Kim, dan I. J. Lee. 2018. Endophytic Fungus *Paecilomyces formosus* LHL10 Produces Sester-Terpenoid YW3548 and Cyclic Peptide That Inhibit Urease and α -Glucosidase Enzyme Activities. *Archives of Microbiology*. 200(10):1493–1502.
- Brewer, M. S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10(4):221–247.
- Cahaya, N., A. Ibrahim, A. M. Ramadhan, dan R. Rusli. 2016. Isolasi Jamur Endofit Daun Jahe Merah (*Zingiber officinale*). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-4*. 20–21.
- Calvo, A. M., R. A. Wilson, J. W. Bok, dan N. P. Keller. 2002. Relationship Between Secondary Metabolism and Fungal Development. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66(3):51.
- Cannel, R. J. P. 1998. *Natural Product Isolation*. Totowa, New Jersey. Humana Press Lnc.
- Corrêa, R. C. G., S. A. Rhoden, T. R. Mota, J. L. Azevedo, J. A. Pamphile, C. G. M. de Souza, M. de L. T. de M. Polizeli, A. Bracht, dan R. M. Peralta. 2014. Endophytic Fungi: Expanding The Arsenal of Industrial Enzyme Producers.

- Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 41(10):1467–1478.
- Corry, J. E. L., G. D. W. Curtis, dan R. M. Baird. 2011. *Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Das, M., H. S. Prakash, dan M. S. Nalini. 2017. Antioxidative Properties of Phenolic Compounds Isolated from The Fungal Endophytes of *Zingiber nimmonii* (J. Graham) Dalzell. *Frontiers in Biology*. 12(2):151–162.
- Devi, N. N., J. J. Prabakaran, dan F. Wahab. 2012. Phytochemical Analysis and Enzyme Analysis of Endophytic Fungi from *Centella asiatica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(3 SUPPL.):S1280–S1284.
- Drahansky, M., M. . Paridah, A. Moradbak, A. . Mohamed, F. Abdulwahab taiwo Owolabi, M. Asniza, dan S. H. . Abdul Khalid. 2016. Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents. *Intech. i(tourism)*:13.
- Fatoni, G. 2019. Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Tumbuhan Paku (*Pteridophyta*) di Kabupaten Lumajang. Universitas Jember.
- Ghosal, M. dan P. Mandal. 2012. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Two Selected ‘Bihi’ Fruits Used as Vegetables in Darjeeling Himalaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(2)
- Grenier, A., G. Duport, S. Page, G. Condemine, dan Y. Rahbe. 2006. The Phytopathogen *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937) is a Pathogen of The Pea Aphid. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(3):1956–1965.
- Gunawan, T. Chikmawati, Sobir, dan Sulistijorini. 2016. Review : Fitokimia Genus *Baccaurea* spp . *Bioeksperimen*. 2(2):96–110.
- Gutarowska, B. dan A. Czyżowska. 2009. The Ability of Filamentous Fungi to Produce Acids on Indoor Building Materials. *Annals of Microbiology*. 59(4):807–813.
- Hakim, S. S. 2017. *Fungi Endofit : Potensi Dan Pemanfaatannya Dalam Budidaya Tanaman Kehutanan*. Banjarbaru: Balai Penelitian Kehutanan Banjarbaru.
- Jumahwi. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Muell. Arg) terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. Universitas Jember.
- Kaul, S., S. Gupta, M. Ahmed, dan M. K. Dhar. 2012. Endophytic Fungi from

- Medicinal Plants: A Treasure Hunt for Bioactive Metabolites. *Phytochemistry Reviews*. 11(4):487–505.
- Khan, R., S. Shahzad, M. Iqbal choudhary, S. A. Khan, dan A. Ahmad. 2010. Communities of Endophytic Fungi in Medicinal Plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany*. 42(2):1281–1287.
- Kjer, J., A. Debbab, A. H. Aly, dan P. Proksch. 2010. Methods for Isolation of Marine-Derived Endophytic Fungi and Their Bioactive Secondary Products. *Nature Protocols*. 5(3):479–490.
- Kusmardiyani, S., G. Novita, dan I. Fidrianny. 2016. Antioxidant Activities from Various Extracts of Different Parts of Kelakai (*Stenochlaena palustris*) Grown In Central Kalimantan - Indonesia. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9:215–219.
- Lakhanpal, P. dan D. K. Rai. 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update - Ejournal*. 2(2)
- Lesjak, M., I. Beara, N. Simin, D. Pintać, T. Majkić, K. Bekvalac, D. Orčić, dan N. Mimica-Dukić. 2018. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Quercetin and Its Derivatives. *Journal of Functional Foods*. 40(November 2016):68–75.
- Lingga, L. 2012. *The Healing Power of Ant-Oxidant*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Liofilchem. 2013. Rose Bengal Agar Base. 2013. Halaman 10–13.
- McKinney, R. E. 2004. *Environmental Pollution Control Microbiology*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(December 2003):211–219.
- Mukhriani. 2011. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. UIN Alauddin Makassar.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelley, V. W. Rodwell, dan P. A. Weil. 2012. *Biokimia Harper*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ngatirah. 2017. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Instiper Yogyakarta.
- Oxoid Microbiology Product. 2020. Rose-Bengal Chloramphenicol Agar. http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0549&c=UK&lang=EN. (Diakses pada 5 April 2020)

- Papagianni, M. 2004. Fungal Morphology and Metabolite Production in Submerged Mycelial Processes. *Biotechnology Advances*. 22(3):189–259.
- Pisoschi, A. M. dan G. P. Negulescu. 2012. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 01(01)
- Pratoko, D. K., F. A. Wardhani, N. Kristiningrum, F. A. Fajrin, dan D. A. Pangaribowo. 2018. Kadar Fenolat dan Flavonoid Total serta Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*). *Al-Kimia*. 6(2)
- Prior, R. L., X. Wu, dan K. Schaich. 2005. Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10):4290–4302.
- Pumphrey, B. dan C. Julien. 1996. Fermentation basics. *An Introduction to Fermentation*. (May):1–24.
- Qamariah, N., E. Mulyani, dan N. Dewi. 2018. Inventarisasi Tumbuhan Obat di Desa Pelangsian Kecamatan Mentawa Baru Ketapang Kabupaten Kotawaringin Timur. *Borneo Journal of Pharmacy*. 1(1):1–10.
- Rachmani, E. P. N., S. Pramono, dan A. E. Nugroho. 2018. Aktivitas Antioksidan Fraksi Flavonoid Bebas Andrografolid dari Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*. 1(2):42–49.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3):113–126.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Edisi Soetam Riz. Malang: Seribu Bintang.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Surakarta: Deepublish.
- Sarker, S. D., Z. Latif, dan A. I. Gray. 2012. An Introduction to Natural Products Isolation. *Natural Products Isolation*. 864:1–25.
- Schulz, B., C. Boyle, S. Draeger, A. Ro, dan K. Krohn. 2002. Endophytic Fungi: A Source of Novel Biologically Active Secondary Metabolites. *The British Mycological Society*. 106(September):996–1004.
- Sharma, D., A. Pramanik, dan P. K. Agrawal. 2016. Evaluation of Bioactive Secondary Metabolites from Endophytic Fungus *Pestalotiopsis neglecta* BAB-5510 Isolated from Leaves of *Cupressus torulosa* D. Don. *3 Biotech*.

6(2):1–14.

Sharma, P., A. B. Jha, R. S. Dubey, dan M. Pessarakli. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants Under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 2012:1–26.

Shimamura, T., Y. Sumikura, T. Yamazaki, A. Tada, T. Kashiwagi, H. Ishikawa, T. Matsui, N. Sugimoto, H. Akiyama, dan H. Ukeda. 2014. Applicability of The DPPH Assay for Evaluating The Antioxidant Capacity of Food Additives - Inter-Laboratory Evaluation Study. *Analytical Sciences*. 30(7):717–721.

Sofowora, A. 1996. Research in Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. *The Journal Of Alternative and Complementary Medicine*. 2(3):365–372.

Stanbury, P. F., A. Whitaker, dan S. J. Hall. 2016. *Principles of Fermentation Technology: Third Edition*. *Principles of Fermentation Technology: Third Edition*. New York: Butterworth-Heinemann is an imprint of Elsevier

Strobel, G. dan B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4):491–502.

Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: Anugrah Utama Raharja.

Tan, R. X. dan W. X. Zou. 2001. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *The Royal Society of Chemistry*. (March):448–459.

Tian, X., C. Huang, dan J. Huang. 2017. Identification of Flavonoids and Flavonoid-Producing Endophytic Fungi Isolated from *Opisthopappus taihangensis* (Ling) C. Shih. *Bangladesh Journal of Botany*. 46(3):1063–1070.

Tim, T. K. 2012. *Baccaurea racemosa*. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 4, Fruits*. 4:1–1022.

United States Department of Agriculture. 2019. Plants Profile for *Baccaurea Racemosa* (Menteng). <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=BARA3>. (Diakses pada 16 Oktober 2019)

Vashishta, B. R., A. K. Sinha, dan A. Kumar. 2016. *Botany for Degree Students : Fungi (Revised Multi-Colour Edition)*. New Delhi: S Chand and Company Limited.

Wagner, H. dan S. Bladt. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer*

Chromatography Atlas. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Watkinson, S. C., L. Boddy, dan N. P. Money. 2015. *The Fungi Third Edition*. San Diego. Elsevier Science Publishing Co. Inc.

Widodo, H., S. Sismindari, W. Asmara, dan A. Rohman. 2019. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Selected Medicinal Plants Used for Liver Diseases and Its Classification with Chemometrics. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 9(6):99–105.

Wiyakrutta, S., N. Sriubolmas, W. Panphut, N. Thongon, K. Danwisetkanjana, N. Ruangrungsi, dan V. Meevootisom. 2004. Endophytic Fungi with Anti-Microbial, Anti-Cancer and Anti-Malarial Activities Isolated from Thai Medicinal Plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20(3):265–272.

Wulansari, D. dan Chairul. 2011. Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2, 2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH). *Majalah Obat Tradisional*. 16(1):22–25.

Xu, J., S. S. Ebada, dan P. Proksch. 2010. Pestalotiopsis A Highly Creative Genus: Chemistry and Bioactivity of Secondary Metabolites. *Fungal Diversity*. 44:15–31.

Yu, Y., B. Ji Ma, J. Song Liu, J. Yi Yue, H. Ping Chen, Y. Min Liang, Z. Yu Zhou, Guo kai Wang, dan Gang Wang. 2017. Two New Alkaloid Metabolites Produced By Endophytic Fungus *Stagonosporopsis oculihominis* Isolated from *Dendrobium huoshanense*. *Phytochemistry Letters*. 19:266–270.

Yuliani, S. dan S. Satuhu. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Jakarta: Penerbit Swadaya.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Sampel Batang *B. racemosa*

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 64/PL17.3.1.02/LL/2018

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Universitas Jember No: 3065/UN25.13/LL/2018 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Jumahwi
NIM : 152210101041
Jur/Fak/PT : Fakultas Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Euphorbiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: Baccaurea; Spesies: Baccaurea racemosa, Muell.Arg.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 11 Desember 2018

Ka. Laboratorium Tanaman



Lilik Mastuti, MP

NIP. 195808201987032001

Lampiran 4.2 Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang *B. racemosa***1. Isolat BK 1**

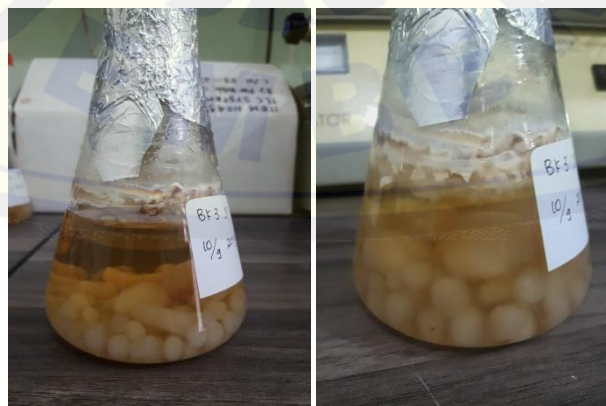
Hari Ke-7

Hari Ke-14

2. Isolat BK 2

Hari Ke-7

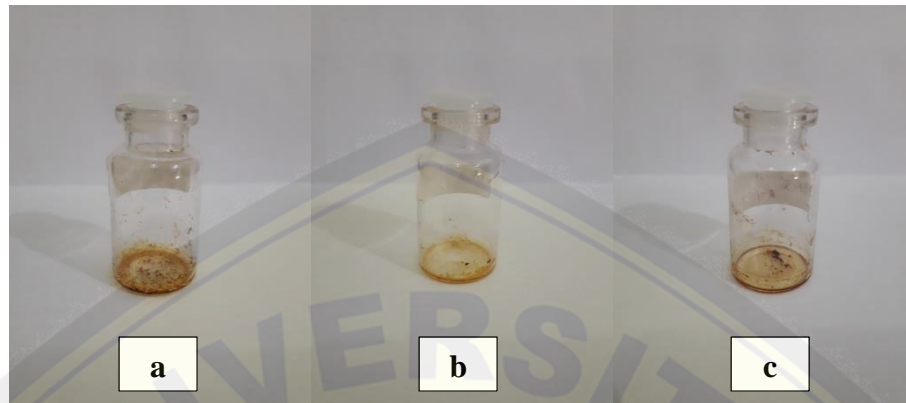
Hari Ke-14

3. Isolat BK 3

Hari Ke-7

Hari Ke-14

Lampiran 4.3 Rendemen Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang *B. racemosa*



Keterangan : (a) Ekstrak BK 1, (b) Ekstrak BK 2, (c) Ekstrak BK 3

- Contoh perhitungan bobot ekstrak

$$\text{Botol + ekstrak} = 9,5918 \text{ g}$$

$$\text{Botol kosong} = 9,5684 \text{ g}$$

$$\text{Bobot ekstrak} = 0,0234 \text{ g}$$

$$= 23,4 \text{ mg}$$

- Contoh perhitungan rendemen ekstrak


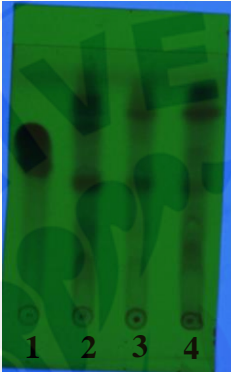
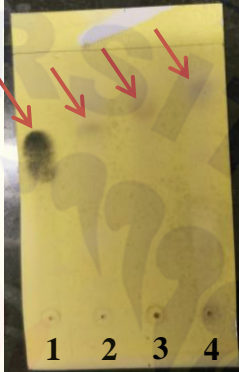
$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak hasil fermentasi}}{\text{Volume fermentasi}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,0234 \text{ g}}{300 \text{ ml}} \times 100 \%$$


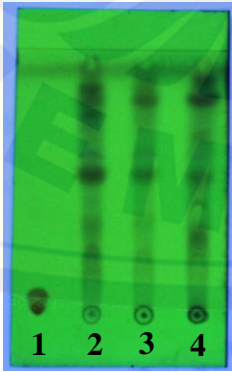

$$= 0,0078 \%$$

Lampiran 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Fungi Endofit Batang *B. racemosa*

a. KLT Fenolat

Sebelum Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Diberikan Penampak Noda (di bawah sinar lampu)	Keterangan
			Keterangan : 1) Asam galat 2) BK1 3) BK2 4) BK3 Adanya golongan senyawa fenolat ditunjukkan dengan noda berwarna hitam

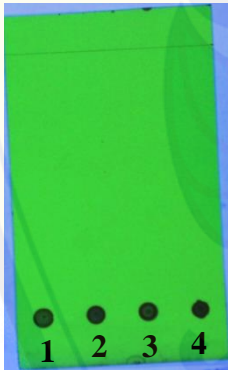
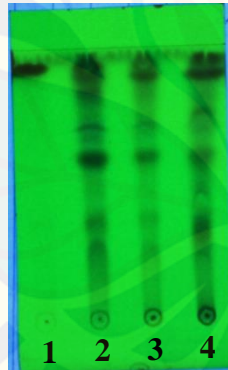
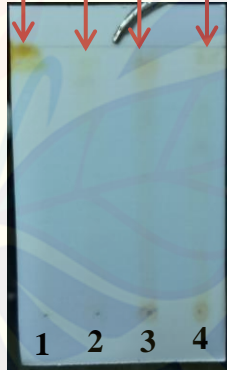
b. KLT Alkaloid

Sebelum Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Diberikan Penampak Noda (di bawah sinar lampu)	Keterangan
			Keterangan : 1) Berberin 2) BK1 3) BK2 4) BK3 Adanya golongan senyawa alkaloid ditunjukkan dengan noda berwarna jingga (Tepat setelah diberi penampak noda)


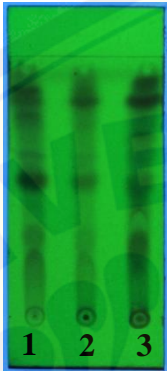



(Setelah dipanaskan)



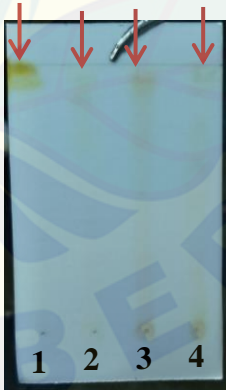

c. KLT Flavonoid

Sebelum Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254 \text{ nm}$)	Setelah Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254 \text{ nm}$)	Setelah Diberikan Penampak Noda (di bawah sinar lampu)	Keterangan
			<p>Keterangan :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Kuersetin 2) BK1 3) BK2 4) BK3 <p>Adanya golongan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan noda berwarna kuning</p>

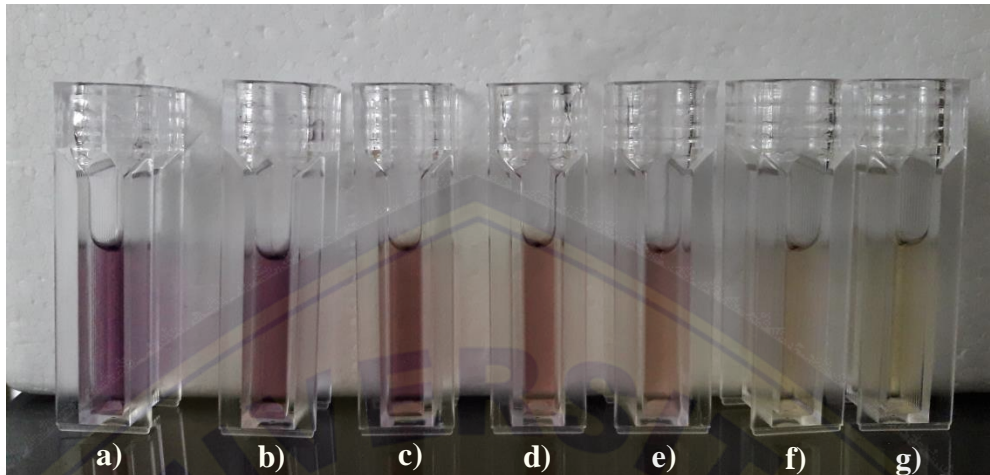
d. KLT Terpenoid atau Steroid

Sebelum Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Eluasi (di bawah sinar UV $\lambda = 254$ nm)	Setelah Diberikan Penampak Noda (di bawah sinar lampu)	Keterangan
			<p>Keterangan :</p> <p>1) BK1 2) BK2 3) BK3</p> <p>Adanya golongan senyawa terpenoid atau steroid ditunjukkan dengan noda berwarna ungu</p>

e. Perbandingan Posisi Noda dari Keempat Golongan Senyawa

Fenolat	Alkaloid	Flavoloid	Terpenoid/Steroid
			
<p>Keterangan :</p> <p>1) Asam galat 2) BK1 3) BK2 4) BK3</p>	<p>Keterangan :</p> <p>1) Berberin 2) BK1 3) BK2 4) BK3</p>	<p>Keterangan :</p> <p>1) Kuersetin 2) BK1 3) BK2 4) BK3</p>	<p>Keterangan :</p> <p>1) BK1 2) BK2 3) BK3</p>

Lampiran 4.5 Perhitungan DPPH dan Larutan Uji



Contoh gambar peredaman DPPH oleh kuersetin sebagai antioksidan, a) DPPH tanpa kuersetin, b) DPPH + kuersetin 3,962 $\mu\text{g/mL}$, c) DPPH + kuersetin 9,905 $\mu\text{g/mL}$, d) DPPH + kuersetin 14,858 $\mu\text{g/mL}$, e) DPPH + kuersetin 19,81 $\mu\text{g/mL}$, f) DPPH + kuersetin 24,763 $\mu\text{g/mL}$, g) DPPH + kuersetin 29,715 $\mu\text{g/mL}$

a. Perhitungan DPPH

Konsentrasi DPPH yang akan digunakan yaitu 0,1 mM (Molyneux, 2004)

Mr DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$) = 394,33 (Molyneux, 2004)

$$\begin{aligned}
 0,1 \text{ mM} &= 0,0001 \text{ M} \\
 &= 0,0001 \text{ mol/L} \\
 &= \frac{0,0001 \frac{\text{g}}{\text{Mr}}}{\text{L}} \\
 &= \frac{0,0001 \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times 394,33}{\text{L}} \\
 &= 0,039433 \text{ g/L} \\
 &= 39,433 \text{ mg/L} \\
 &= 39,433 \mu\text{g/mL} \approx 40 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Penimbangan :

2 mg DPPH dilarutkan dalam 50 mL metanol

$$\frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \times \frac{1.000 \text{ mL}}{\text{L}} = 40 \mu\text{g/mL}$$

b. Pembuatan Larutan Uji

1) Kuersetin

• Larutan Induk

$$\frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times \frac{1.000 \text{ mL}}{L} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

• Pengenceran

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,625 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,75 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Penimbangan = 1,981 mg dalam 1 mL	3,962 $\mu\text{g/mL}$, 9,905 $\mu\text{g/mL}$,
Larutan Induk = 198,1 $\mu\text{g/mL}$ dan 19,81 $\mu\text{g/mL}$	14,858 $\mu\text{g/mL}$, 19,81 $\mu\text{g/mL}$, 24,763 $\mu\text{g/mL}$, 29,715 $\mu\text{g/mL}$

2) Sampel BK 1

• Larutan Induk

$$\frac{5 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} \times \frac{1.000 \text{ mL}}{L} = 5.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

• Pengenceran

$$\frac{0,125 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,47 \text{ mL}}{1,175 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,225 \text{ mL}}{0,45 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,225 \text{ mL}}{0,45 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2.500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,375 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1.500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,27 \text{ mL}}{0,45 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 3.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	528,8 $\mu\text{g/mL}$, 1.057,6 $\mu\text{g/mL}$,

Penimbangan = 5,288 mg dalam 1 mL	1.586,4 µg/mL, 2.115,2 µg/mL,
Larutan Induk = 5288 µg/mL	2.644 µg/mL, 3.172,8 µg/mL
Replikasi 2	492,3 µg/mL, 984,6 µg/mL,
Penimbangan = 4,923 mg dalam 1 mL	1.476,9 µg/mL, 1.969,2 µg/mL,
Larutan Induk = 4923 µg/mL	2.461,5 µg/mL, 2.953,8 µg/mL
Replikasi 3	503,530 µg/mL, 1.007,059
Penimbangan = 8,56 mg dalam 1,7 mL	µg/mL, 1.510,589 µg/mL,
Larutan Induk = 5035, 294 µg/mL	2.014,118 µg/mL, 2.517,647
	µg/mL, 3.021,176 µg/mL

3) Sampel BK 2

- Larutan Induk

$$\frac{1 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} \times \frac{1.000 \text{ mL}}{L} = 500 \text{ µg/mL}$$

- Pengenceran

$$\frac{0,025 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 250 \text{ µg/mL} \quad \frac{0,375 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 1.500 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,125 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 500 \text{ µg/mL} \quad \frac{0,47 \text{ mL}}{1,175 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 2.000 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,225 \text{ mL}}{0,45 \text{ mL}} \times 2.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 1.000 \text{ µg/mL} \quad \frac{0,225 \text{ mL}}{0,45 \text{ mL}} \times 5.000 \frac{\text{µg}}{\text{mL}} = 2.500 \text{ µg/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	250,05 µg/mL, 500,1 µg/mL,
Penimbangan = 5,001 mg dalam 1 mL	1.000,2 µg/mL, 1.500,3 µg/mL,
Larutan Induk = 5.001 µg/mL	2.000,4 µg/mL, 2.500,5 µg/mL
Replikasi 2	255,5 µg/mL, 511 µg/mL, 1.022
Penimbangan = 5,110 mg	µg/mL, 1.533 µg/mL, 2.044
Larutan Induk = 5.110 µg/mL	µg/mL, 2.555 µg/mL
Replikasi 3	258,7 µg/mL, 514,7 µg/mL,
Penimbangan = 5,147 mg	1.029,4 µg/mL, 1.544,1 µg/mL,
Larutan Induk = 5.147 µg/mL	2.058,8 µg/mL, 2.573,5 µg/mL

4) Sampel BK 3

• Larutan Induk

$$\frac{1 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} \times \frac{1.000 \text{ mL}}{L} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

• Pengenceran

$$\frac{0,12 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,24 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 125 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,3 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 250 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,18 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 150 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,36 \text{ mL}}{0,6 \text{ mL}} \times 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 300 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1 Penimbangan = 1,016 mg Larutan Induk = 508 $\mu\text{g/mL}$	101,6 $\mu\text{g/mL}$, 127 $\mu\text{g/mL}$, 152,4 $\mu\text{g/mL}$, 203,2 $\mu\text{g/mL}$, 254 $\mu\text{g/mL}$, 304,8 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2 Penimbangan = 1,087 mg Larutan Induk = 543,5 $\mu\text{g/mL}$	108,7 $\mu\text{g/mL}$, 135,875 $\mu\text{g/mL}$, 163,05 $\mu\text{g/mL}$, 217,4 $\mu\text{g/mL}$, 271,75 $\mu\text{g/mL}$, 326,1 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3 Penimbangan = 1,065 mg Larutan Induk = 532,5 $\mu\text{g/mL}$	106,5 $\mu\text{g/mL}$, 133,125 $\mu\text{g/mL}$, 159,75 $\mu\text{g/mL}$, 213 $\mu\text{g/mL}$, 266,25 $\mu\text{g/mL}$, 319,5 $\mu\text{g/mL}$

Lampiran 4.6 Konsentrasi Pengujian Dalam Kuvet

Larutan kontrol positif (Kuersetin) dan larutan uji ekstrak 0,2 ml ditambahkan dengan DPPH 0,8 ml

a. Kuersetin

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 4 \text{ } \mu\text{g/mL} = 0,8 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 25 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 15 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 30 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Penimbangan = 1,981 mg	0,7924 $\mu\text{g/mL}$, 1,981 $\mu\text{g/mL}$, 2,9715 $\mu\text{g/mL}$, 3,962 $\mu\text{g/mL}$, 4,9525 $\mu\text{g/mL}$, 5,943 $\mu\text{g/mL}$

b. Sampel BK 1

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2.500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1.500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 300 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 3.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 600 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	102,14 $\mu\text{g/mL}$, 204,28 $\mu\text{g/mL}$, 306,42 $\mu\text{g/mL}$, 408,56 $\mu\text{g/mL}$, 510,7 $\mu\text{g/mL}$, 612,84 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	98,46 $\mu\text{g/mL}$, 196,92 $\mu\text{g/mL}$, 295,38 $\mu\text{g/mL}$, 393,84 $\mu\text{g/mL}$, 492,3 $\mu\text{g/mL}$, 590,76 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	100,706 $\mu\text{g/mL}$, 201,412 $\mu\text{g/mL}$, 302,118 $\mu\text{g/mL}$, 402,824 $\mu\text{g/mL}$, 503,530 $\mu\text{g/mL}$, 604,235 $\mu\text{g/mL}$

c. Sampel BK 2

$$\begin{array}{ll} \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 250 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1.500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 300 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2.500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{array}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	50,01 $\mu\text{g/mL}$, 100,02 $\mu\text{g/mL}$, 200,04 $\mu\text{g/mL}$, 300,06 $\mu\text{g/mL}$, 400,08 $\mu\text{g/mL}$, 500,1 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	51,1 $\mu\text{g/mL}$, 102,2 $\mu\text{g/mL}$, 204,4 $\mu\text{g/mL}$, 306,6 $\mu\text{g/mL}$, 408,8 $\mu\text{g/mL}$, 511 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	51,74 $\mu\text{g/mL}$, 102,94 $\mu\text{g/mL}$, 205,88 $\mu\text{g/mL}$, 308,82 $\mu\text{g/mL}$, 411,76 $\mu\text{g/mL}$, 514,7 $\mu\text{g/mL}$

d. Sampel BK 3

$$\begin{array}{ll} \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 125 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 250 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 150 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30 \text{ } \mu\text{g/mL} & \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 300 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{array}$$

Percobaan	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	20,32 $\mu\text{g/mL}$, 25,4 $\mu\text{g/mL}$, 30,48 $\mu\text{g/mL}$, 40,64 $\mu\text{g/mL}$, 50,8 $\mu\text{g/mL}$, 60,96 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	21,74 $\mu\text{g/mL}$, 27,175 $\mu\text{g/mL}$, 32,61 $\mu\text{g/mL}$, 43,48 $\mu\text{g/mL}$, 54,35 $\mu\text{g/mL}$, 65,22 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	21,3 $\mu\text{g/mL}$, 26,625 $\mu\text{g/mL}$, 31,95 $\mu\text{g/mL}$, 42,6 $\mu\text{g/mL}$, 53,25 $\mu\text{g/mL}$, 63,9 $\mu\text{g/mL}$

Lampiran 4.7 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

U-1800 Spectrophotometer

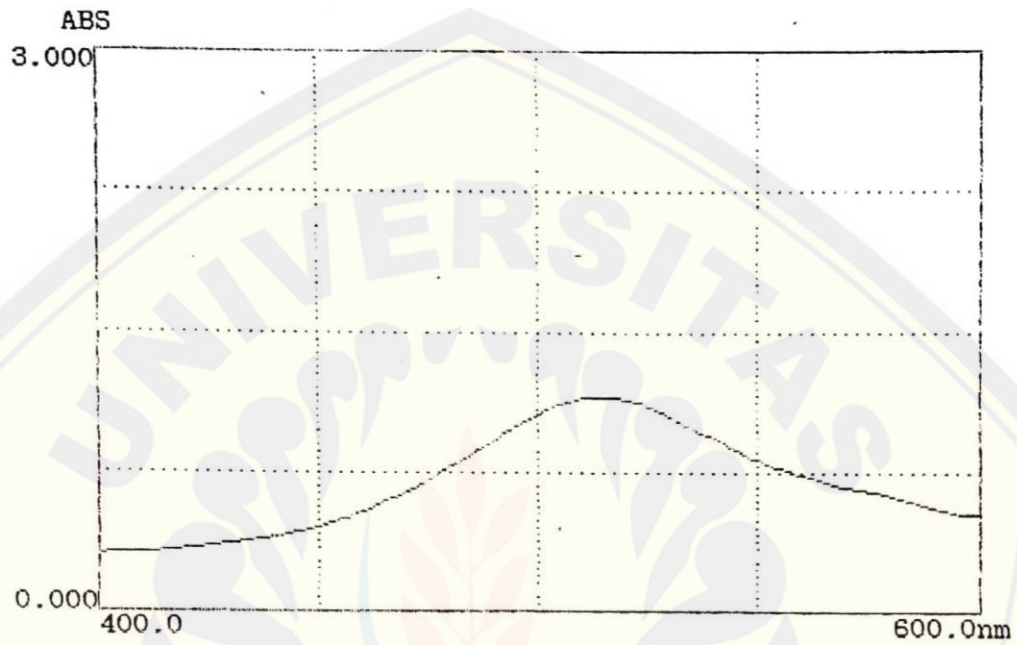
Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	0.527	599.0	0.518	598.0	0.516	597.0	0.519
596.0	0.523	595.0	0.527	594.0	0.531	593.0	0.536
592.0	0.542	591.0	0.549	590.0	0.556	589.0	0.563
588.0	0.570	587.0	0.577	586.0	0.584	585.0	0.592
584.0	0.598	583.0	0.605	582.0	0.614	581.0	0.622
580.0	0.628	579.0	0.633	578.0	0.637	577.0	0.641
576.0	0.644	575.0	0.649	574.0	0.653	573.0	0.658
572.0	0.662	571.0	0.666	570.0	0.671	569.0	0.676
568.0	0.681	567.0	0.686	566.0	0.692	565.0	0.698
564.0	0.704	563.0	0.710	562.0	0.717	561.0	0.724
560.0	0.732	559.0	0.739	558.0	0.746	557.0	0.754
556.0	0.761	555.0	0.769	554.0	0.778	553.0	0.787
552.0	0.797	551.0	0.807	550.0	0.817	549.0	0.826
548.0	0.837	547.0	0.847	546.0	0.858	545.0	0.869
544.0	0.881	543.0	0.892	542.0	0.905	541.0	0.918
540.0	0.931	539.0	0.942	538.0	0.954	537.0	0.966
536.0	0.977	535.0	0.990	534.0	1.003	533.0	1.016
532.0	1.029	531.0	1.040	530.0	1.052	529.0	1.064
528.0	1.075	527.0	1.085	526.0	1.094	525.0	1.102
524.0	1.110	523.0	1.118	522.0	1.127	521.0	1.133
520.0	1.138	519.0	1.142	518.0	1.146	517.0	1.148
516.0	1.151	515.0	1.151	514.0	1.152	513.0	1.151
512.0	1.149	511.0	1.147	510.0	1.143	509.0	1.139
508.0	1.134	507.0	1.128	506.0	1.122	505.0	1.114
504.0	1.105	503.0	1.095	502.0	1.084	501.0	1.073
500.0	1.062	499.0	1.051	498.0	1.039	497.0	1.027
496.0	1.015	495.0	1.001	494.0	0.986	493.0	0.971
492.0	0.956	491.0	0.943	490.0	0.928	489.0	0.913
488.0	0.899	487.0	0.885	486.0	0.870	485.0	0.855
484.0	0.841	483.0	0.826	482.0	0.811	481.0	0.796
480.0	0.781	479.0	0.768	478.0	0.755	477.0	0.742
476.0	0.728	475.0	0.715	474.0	0.701	473.0	0.688
472.0	0.675	471.0	0.663	470.0	0.650	469.0	0.637
468.0	0.625	467.0	0.614	466.0	0.603	465.0	0.592
464.0	0.580	463.0	0.569	462.0	0.558	461.0	0.547
460.0	0.536	459.0	0.527	458.0	0.518	457.0	0.509
456.0	0.500	455.0	0.491	454.0	0.483	453.0	0.474
452.0	0.466	451.0	0.459	450.0	0.451	449.0	0.445
448.0	0.438	447.0	0.432	446.0	0.427	445.0	0.421
444.0	0.416	443.0	0.411	442.0	0.406	441.0	0.401
440.0	0.397	439.0	0.393	438.0	0.389	437.0	0.385
436.0	0.381	435.0	0.377	434.0	0.373	433.0	0.369
432.0	0.366	431.0	0.362	430.0	0.359	429.0	0.356
428.0	0.353	427.0	0.349	426.0	0.347	425.0	0.344
424.0	0.340	423.0	0.337	422.0	0.334	421.0	0.332
420.0	0.329	419.0	0.326	418.0	0.324	417.0	0.322
416.0	0.320	415.0	0.318	414.0	0.315	413.0	0.313
412.0	0.312	411.0	0.310	410.0	0.308	409.0	0.307
408.0	0.306	407.0	0.305	406.0	0.304	405.0	0.304
404.0	0.303	403.0	0.303	402.0	0.302	401.0	0.301
400.0	0.301						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:



Wavelength Scan
Data Mode: ABS
Scan Range: 600.0-400.0nm
Slit Width: 4nm
Speed(nm/min): 800nm/min
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

Lampiran 4.8 Perhitungan persen peredaman DPPH dan IC₅₀

$$\text{Peredaman DPPH} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)	Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL)	SD	CV (%)
Kuersetin	3,349	3,305	0,101	3,056
	3,299			
	3,267			
BK 1	410,600	424,36	15,136	3,567
	440,321			
	422,547			
BK 2	205,365	197,956	6,426	3,246
	193,896			
	194,608			
BK3	28,253	28,772	1,589	5,522
	30,555			
	27,507			

- Contoh perhitungan SD

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{(\bar{X} - R1)^2 + (\bar{X} - R2)^2 + (\bar{X} - R3)^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(3,305 - 3,349)^2 + (3,305 - 3,229)^2 + (3,305 - 3,267)^2}{2}} \\ &= 0,101 \end{aligned}$$

- Contoh perhitungan CV

$$\begin{aligned} \text{CV} &= \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100\% \\ &= \frac{0,101}{3,305} \times 100\% \\ &= 3,056\% \end{aligned}$$

a. Kuersetin

1. Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
3,962	0,792		0,860	0,747	13,140	3,349
9,905	1,981		0,860	0,611	28,953	
14,858	2,972		0,860	0,483	43,837	
19,81	3,962		0,860	0,372	56,744	
24,763	4,953		0,860	0,202	76,512	
29,715	5,943		0,860	0,100	88,372	

2. Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
3,962	0,792		0,860	0,761	11,512	3,299
9,905	1,981		0,860	0,600	30,233	
14,858	2,972		0,860	0,472	45,116	
19,81	3,962		0,860	0,341	60,349	
24,763	4,953		0,860	0,193	77,558	
29,715	5,943		0,860	0,108	87,442	

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
3,962	0,792		0,860	0,762	11,395	3,267
9,905	1,981		0,860	0,601	30,116	
14,858	2,972		0,860	0,452	47,442	
19,81	3,962		0,860	0,344	60,000	
24,763	4,953		0,860	0,181	78,953	
29,715	5,943		0,860	0,110	87,209	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (µg/mL)
1	$y = 14,899x + 0,1022$	0,9981	3,349
2	$y = 15,064x + 0,3093$	0,9983	3,299
3	$y = 15,105x + 0,6512$	0,9966	3,267
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			3,305 ± 0,101

- Contoh Perhitungan IC₅₀

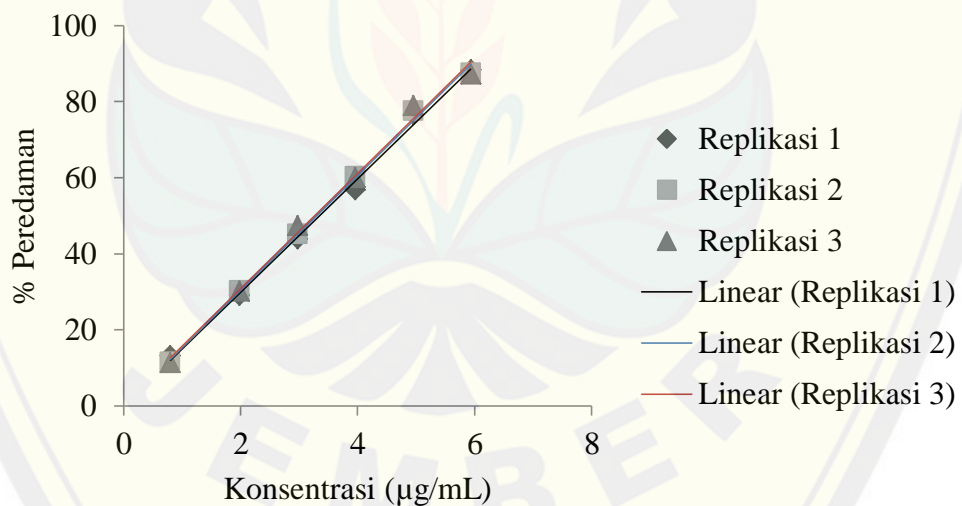
Persamaan linier $y = 14,899x + 0,1022$

$$50 = 14,899x + 0,1022$$

$$x = \frac{50 - 0,1022}{14,899}$$

$$x = 3,349$$

$$IC_{50} = 3,349 \text{ µg/mL}$$



b. BK1

1. Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
528,8	105,76		0,927	0,700	24,488	410,212
1057,6	211,52		0,927	0,620	33,118	
1586,4	317,28		0,927	0,506	45,415	
2115,2	423,04		0,927	0,439	52,543	
2644	528,8		0,927	0,398	57,066	

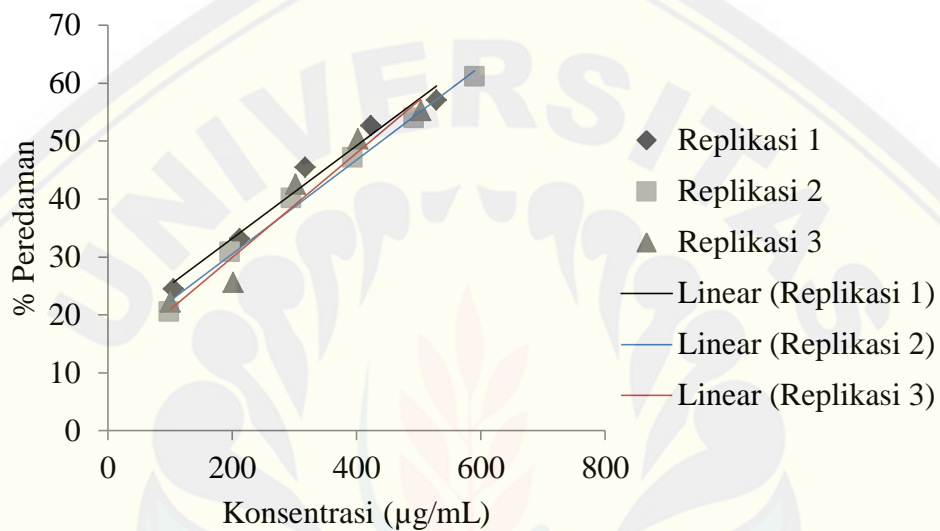
2. Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
492,3	98,46		0,873	0,694	20,504	440,321
984,6	196,92		0,873	0,604	30,813	
1476,9	295,38		0,873	0,523	40,092	
1969,2	393,84		0,873	0,462	47,079	
2461,5	492,3		0,873	0,402	53,952	
2953,8	590,76		0,873	0,340	61,054	

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
503,530	100,706		0,873	0,680	22,108	422,547
1007,059	201,412		0,873	0,650	25,544	
1510,589	302,118		0,873	0,502	42,497	
2014,118	402,824		0,873	0,434	50,286	
2517,649	503,53		0,873	0,391	55,212	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (µg/mL)
1	$y = 0,0801x + 17,142$	0,9871	410,212
2	$y = 0,081x + 14,334$	0,9959	440,321
3	$y = 0,0903x + 11,844$	0,9758	422,547
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			424,36 ± 15,136



c. BK2

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
250,05	50,01	0,898	0,700	22,05	205,365
500,1	100,02	0,898	0,408	35,52	
1000,2	200,04	0,898	0,313	54,66	
1500,3	300,06	0,898	0,214	65,14	
2000,4	400,08	0,898	0,153	76,17	

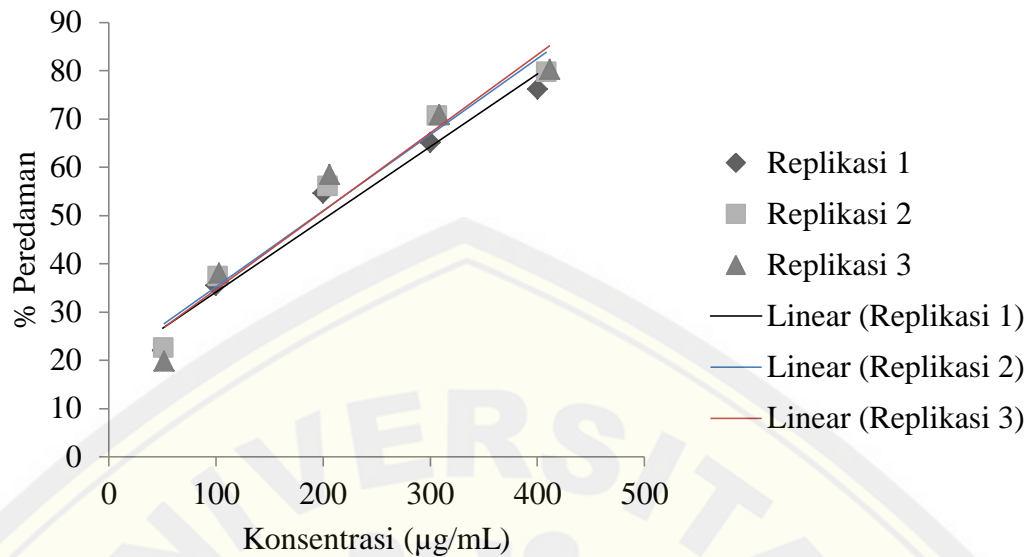
2. Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
255,5	51,1		0,898	0,695	22,606	193,896
511	102,2		0,898	0,562	37,416	
1022	204,4		0,898	0,395	56,013	
1533	306,6		0,898	0,264	70,601	
2044	408,8		0,898	0,182	79,732	

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
258,7	51,74		0,927	0,743	19,849	194,608
514,7	102,94		0,927	0,574	38,08	
1029,4	205,88		0,927	0,385	58,468	
1544,1	308,82		0,927	0,270	70,874	
2058,8	411,76		0,927	0,183	80,259	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
1	$y = 0,1506x + 19,072$	0,9834	205,365
2	$y = 0,1576x + 19,442$	0,9836	193,896
3	$y = 0,1621x + 18,454$	0,9723	194,608
Rata-rata IC ₅₀ \pm SD			197,956 \pm 6,426



d. BK3

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
101,6	20,32	0,860	0,557	35,233	28,253
127	25,4	0,860	0,454	47,209	
152,4	30,48	0,860	0,393	54,302	
203,2	40,64	0,860	0,257	69,711	
254	50,8	0,860	0,116	86,517	

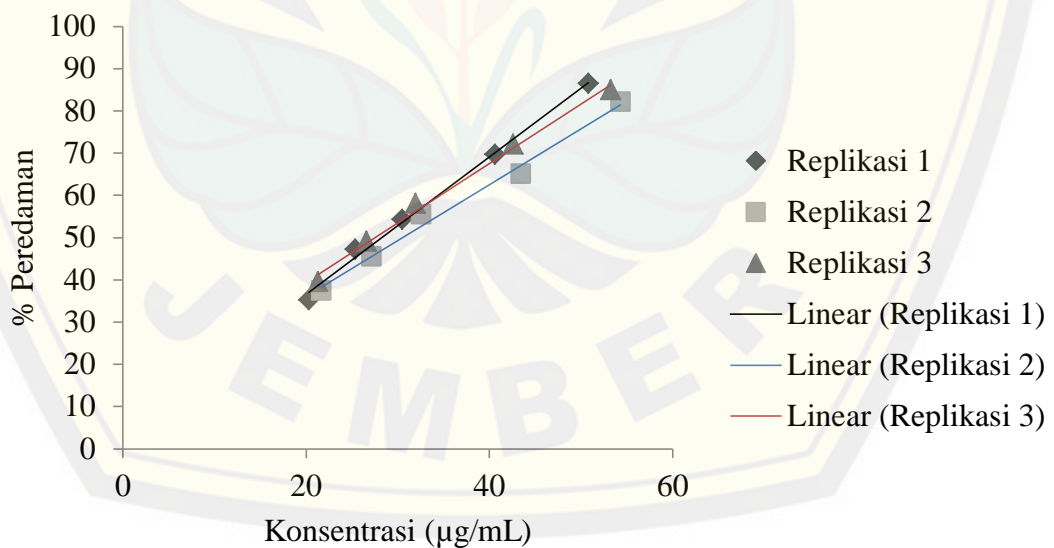
2. Replikasi 2

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
106,5	21,74	0,860	0,539	37,326	30,555
133,125	27,175	0,860	0,469	45,465	
159,75	32,61	0,860	0,384	55,348	
213	43,48	0,860	0,301	65,000	
266,25	54,35	0,860	0,154	82,093	

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi		Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)					
108,7	21,3		0,860	0,520	39,535	
135,875	26,625		0,860	0,438	49,069	
163,05	31,95		0,860	0,361	58,023	27,507
217,4	42,6		0,860	0,300	72,093	
271,75	53,25		0,860	0,129	85,000	

Replikasi	Persamaan	r	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	$y = 1,6294x + 3,9647$	0,9976	28,253
2	$y = 1,3253x + 9,5048$	0,9947	30,555
3	$y = 1,407x + 11,297$	0,9967	27,507
Rata-rata $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$			$28,772 \pm 1,589$



Lampiran 4.9 Hasil analisis dengan SPSS (free trial)

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC ₅₀ Kuersetin	.223	3	.	.985	3	.766
BK1	.210	3	.	.991	3	.820
BK2	.365	3	.	.798	3	.109
BK3	.290	3	.	.926	3	.473

Data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi > 0,05

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.072	3	8	.182

Data terdistribusi homogen dengan nilai signifikansi > 0,05

c. Uji *One Way* ANOVA**ANOVA**

IC₅₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.999	3	2.666	10396.124	.000
Within Groups	.002	8	.000		
Total	8.001	11			

Terdapat perbedaan yang signifikan antar sampel ditunjukkan dengan nilai signifikansi < 0,05

d. Uji *Post Hoc* (LSD)**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Log_X1

LSD

(I) Konsentrasi (J) Konsentrasi		Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound
Kuersetin	BK1	-2.10840*	.01308	.000	-2.1386
	BK2	-1.77727*	.01308	.000	-1.8074
	BK3	-.93938*	.01308	.000	-.9695
BK1	Kuersetin	2.10840*	.01308	.000	2.0782
	BK2	.33113*	.01308	.000	.3010
	BK3	1.16902*	.01308	.000	1.1389
BK2	Kuersetin	1.77727*	.01308	.000	1.7471
	BK1	-.33113*	.01308	.000	-.3613
	BK3	.83789*	.01308	.000	.8077
BK3	Kuersetin	.93938*	.01308	.000	.9092
	BK1	-1.16902*	.01308	.000	-1.1992
	BK2	-.83789*	.01308	.000	-.8680

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Terdapat perbedaan yang signifikan pada semua sampel, ditunjukkan dengan nilai signifikansi $< 0,05$.