

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI FITOKIMIA FLAVONOID FUNGI
ENDOFIT DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)
SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun oleh:

**MOHAMAD KHAFID ABDULLAH
H71216063**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mohamad Khafid Abdullah

NIM : H71216063

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI FITOKIMIA FLAVONOID FUNGI ENDOFIT DARI KULIAT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 03 Agustus 2020

Yang menyatakan,



(Mohamad Khafid Abdullah)

H71216063

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : MOHAMAD KHAFID ABDULLAH

NIM : H71216063

JUDUL : ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI FITOKIMIA
FLAVONOID FUNGI ENDOFIT DARI KULIT BUAH NAGA
MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) SERTA POTENSINYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 03 Agustus 2020

Dosen Pembimbing I



Eva Agustina, M.Si.
NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing II



Irul Hidayati, M.Kes.
NIP.198102282014032001

LEMBAR PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Mohamad Khafid Abdullah ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 03 Agustus 2020

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si.
NIP. 198908302014032008

Penguji II



Irul Hidayati, M.Kes.
NIP.198102282014032001

Penguji III



Hanik Faizah, M.Si
NUP. 201409019

Penguji IV



Mei Lina Fitri Kumalasari, SST.,M.Kes.
NIP. 198805182014032002

Mengetahui,
Plt. Dekan. Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Hj. Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag.
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : MOHAMAD KHAFID ABDULLAH
NIM : H71216063
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI
E-mail address : abduallahkhafid04@gmail.com

Demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Disertasi Lain-lain (.....)
yang berjudul :

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI FITOKIMIA FLAVONOID FUNGI ENDOFIT DARI
KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) SERTA POTENSINYA SEBAGAI
ANTIOKSIDAN

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 08 Agustus 2020

Penulis

(Mohamad Khaifid Abdullah)

tubuh manusia dapat disebabkan oleh paparan luar seperti asap rokok, sinar UV, dan asap kendaraan. Senyawa radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit bagian paling luarnya, sehingga tidak stabil dan bersifat sangat reaktif. Suatu molekul dikatakan stabil apabila memiliki elektron yang berpasangan sehingga tidak berpotensi untuk merusak (Puspitasari, dkk., 2016). Radikal bebas memenuhi kekurangan elektron yang tidak berpasangan dengan cara menarik elektron makromolekul biologis dengan cepat yang berada disekitarnya seperti asam nukleat, protein, dan DNA (asam deoksiribonukleat) (Astuti, 2008).

Radikal bebas yang berlebihan didalam tubuh mengakibatkan antioksidan yang diproduksi oleh tubuh itu sendiri tidak mampu untuk menetralsisir radikal bebas yang konsentrasinya semakin meningkat sehingga memicu timbulnya penyakit degeneratif. Oleh sebab itu sangat diperlukannya antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh, sebagai upaya meredam dan menangkal radikal bebas yang menjadi penyebab rusaknya sel tubuh (Salamah, 2015). Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkal atau menetralkan radikal bebas sehingga dibutuhkan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Salmia, 2016). Berdasarkan pentingnya peran antioksidan terhadap radikal bebas, maka perlunya untuk meningkatkan kapasitas antioksidan dengan menggunakan senyawa antioksidan yang berada didalam (Ayoub, 2017).

Antioksidan yang berada didalam bisa diperoleh dari hasil metabolit sekunder tumbuhan. Senyawa ini digunakan sebagai inovasi dalam

Kandungan senyawa kimia yang berada didalam tumbuhan umumnya tersebar pada berbagai bagian tubuhnya seperti buah, bunga, batang, kulit batang, daun, dan biji (Salmia, 2016). Indonesia sebagai negara dengan iklim tropis memiliki keanekaragaman tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat terutama antioksidan. Diantara tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang banyak dibudidaya di Indonesia terutama di Jawa Timur. Tumbuhan buah naga merah sangat menarik untuk dipelajari lebih dalam karena banyak memiliki manfaat didalamnya. Menurut Nuari dkk (2017) menyebutkan bahwa buah naga merah memiliki potensi sebagai sumber antioksidan karena diduga memiliki kandungan flavonoid golongan flavon.

Flavonoid merupakan salah satu contoh dari senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak berada didalam tumbuhan (Harborne, 1996). Senyawa ini dapat ditemukan hampir disemua bagian tumbuhan sebagai zat warna merah, kuning, biru, dan ungu. Flavonoid memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia. Sejumlah tanaman obat yang memiliki kandungan flavonoid telah dilaporkan berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri, antibakteri, antivirus, dan lain-lain (Salmia, 2016).

Berdasarkan hasil dari penelitian Widianingsih (2017) diketahui bahwa buah naga merah memiliki kandungan flavonoid sebesar 11,381 $\mu\text{gQE/g}$ ekstrak yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian yang dilakukan oleh Nurliyana *et al* (2010) menunjukkan bahwa kulit buah naga merah memiliki kandungan fenolik sebesar 28,16 mg/100 g selain itu pada

penelitian lain yang dilakukan oleh Manihuruk *et al* (2016) mendapatkan hasil total fenolik sebesar $31,12 \pm 1,56$ mgEAG/100g. Kandungan pada buah naga merah dapat diaplikasikan sebagai penangkal radikal bebas. Hal ini dibuktikan dengan berbagai penelitian yang telah dilakukan.

Penelitian yang dilakukan Nurliyana *et al* (2010) didapatkan hasil bahwa 1 mg/ml kulit buah naga merah dapat menghambat $83,48 \pm 1,02$ % radikal bebas *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Sementara itu lanjutan dari penelitian Manihuruk *et al* (2016) menunjukkan aktivitas penangkalan DPPH $51,35 \pm 0,87\%$. Penelitian lain tentang ekstrak kulit buah naga merah yang dilakukan oleh Wahdaningsih *et al* (2018) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 2.952,14 μ g/ml. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat diketahui bahwa buah naga merah memiliki potensi sebagai antioksidan serta dapat menangkal senyawa radikal bebas (Manihuruk *et al*, 2016; Wahdaningsih *et al*, 2018).

Potensi buah naga merah sebagai antioksidan dapat dikembangkan dengan memanfaatkan fungi endofit yang bersimbiosis didalam jaringan tumbuhan buah naga merah. Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang hidup bersimbiosis dengan bantuan tumbuhan inangnya. Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan dibedakan menjadi dua. Pertama, fungi endofit menginfeksi benih (ovula) inang kemudian penyebarannya memanfaatkan benih serta organ penyerbukan inang. Kedua, mutualisme induktif oleh fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan inangnya melalui udara dan air untuk masuk kedalam jaringan inangnya untuk bersimbiosis (Carrol (1988). Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang kecil sehingga tidak membutuhkan tempat yang luas untuk melakukan budidaya. Selain itu, untuk memperoleh sumber

antioksidan tidak perlu menggunakan jaringan tumbuhan dalam jumlah yang besar sehingga tetap mampu untuk menjaga kelestarian alam (Kumala, 2015). Dalam beberapa tahun terakhir peran fungi endofit dalam biologi telah dipelajari secara luas, karena beberapa spesies fungi endofit diketahui terbukti memiliki peran dalam pertumbuhan dan kebugaran tumbuhan (Rozpadek *et al.*, 2018). Fungi endofit mampu tumbuh didalam jaringan tumbuhan tanpa mengakibatkan gejala negatif pada tumbuhan inang serta dapat memproduksi zat aktif (Praptiwi *et al.*, 2018). Fungi endofit yang diambil dari tumbuhan telah dianggap sebagai sumber daya senyawa bioaktif alami yang penting dan baru (Shylaja *et al.*, 2015).

Menurut Zhao *et al.* (2010), bahwa fungi endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan metabolit sekunder hasil dari tumbuhan inangnya. Selain itu hampir dari 300.000 spesies tumbuhan yang ada didunia hanya sebagian kecil yang masih dipelajari tentang endofitnya, oleh sebab itu penelitian tentang fungi endofit dan tumbuhan inangnya sangat direkomendasikan (Strobel & Daisy, 2003). Salah satu senyawa bioatif yang dapat diproduksi oleh fungi endofit adalah flavonoid.

Penelitian Yuanwar & Ainy (2019) melaporkan bahwa Genus *Penicilium Cladosporium*, *Aspergillus* yang diisolasi dari kulit mentimun memiliki kandungan flavonoid berdasarkan uji fitokimia. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Khalimah & Aini (2019) juga melaporkan bahwa isolat fungi endofit genus *Microporum* dari daun *Avicennia marina* yang diuji secara kualitatif juga menunjukkan hasil positif flavonoid. Penelitian dari Nisa (2018) melaporkan bahwa fungi endofit genus *Fusarium* dan *Mucor* yang diisolasi dari

daun *Chromolaena odorata* menunjukkan hasil positif flavonoid dengan uji fitokimia. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa fungi endofit dapat menghasilkan senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan.

Isolasi 40 fungi endofit dari 10 tanaman yang dilakukan oleh Praptiwi *et al* (2018) menunjukkan 23 fungi endofit memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Berdasarkan Huang *et al* (2007) yang melakukan penelitian terhadap beberapa tanaman obat dan fungi endofitnya mendapatkan hasil bahwa beberapa fungi endofit ditemukan memiliki aktivitas antioksidan kuat. Selain itu beberapa fungi endofit memiliki aktivitas antioksidan yang relatif lebih tinggi daripada tumbuhan inangnya, hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sadananda *et al* (2014) dengan hasil isolasi fungi endofit dari tumbuhan *Viscum album* memiliki aktivitas antioksidan yang relatif lebih tinggi dibandingkan *Viscum album*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Cui *et al* (2015) membuktikan bahwa hasil fungi endofit yang diisolasi dari genus *Rhodiola* yang sudah dikenal sebagai sumber antioksidan dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan baru. Hasil penelitian dari Enyi *et al* (2019) melaporkan bahwa isolasi fungi endofit pada sampel *Psidium guajava* dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder.

Berdasarkan penelitian terdahulu, dapat diketahui bahwa buah naga merah dan potensi fungi endofit yang berasosiasi dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami yang berasal dari luar tubuh. Selain itu juga telah dibuktikan bahwa buah naga merah memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami. Maka dari itu perlunya memaksimalkan pemanfaatan fungi endofit dengan melakukan penelitian mengenai fungi endofit pada tumbuhan

Tabel 2.1. Kandungan dalam kulit dan daging buah naga merah

| Aktivitas | Daging Buah Segar | Kulit Buah Kering |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|
| Total Fenolik | 42,4 ± 0,04 mg | 39,7 ± 5,39 mg |
| Flavonoid | 7,21 ± 0,02 mg | 8,33 ± 0,11 mg |
| Betacyanin | 10,3 ± 0,22 mg | 13,8 ± 0,85 mg |
| IC50 dengan Metode DPPH | 22,4 ± 0,29 µmol | 118 ± 4,12 µmol |
| IC50 dengan Pendekatan ABTS | 28,3 ± 0,83 µmol | 175 ± 15,7 µmol |

(Sumber: Wu *et al*, 2006)

2.2. Fungi

Fungi merupakan organisme khas dalam kelompok makhluk hidup eukariot yang memiliki sifat heterotrof dan bereproduksi secara seksual dan aseksual. Asal mula jamur diduga sekitar 760 tahun yang lalu sampai 1,06 miliar tahun yang lalu (Sarah *et al*, 2015). Fungi dapat mencerna makanannya dengan cara ekstraseluler menggunakan enzim yang dihasilkan dan mengabsorbansi nutrisi untuk digunakan sebagai bahan dasar metabolisme (Gadjar, 2006). Pada umumnya fungi memiliki peran sebagai dekomposer saat berada di alam karena dapat menguraikan makhluk hidup yang mati untuk diubah menjadi substansi yang bisa dimanfaatkan kembali oleh organisme hidup lain terutama tumbuhan (Hoog, 2005).

Fungi dibedakan menjadi dua kelompok besar yang dilihat dari besar ukurannya yaitu makrofungi yang memiliki ukuran besar seperti cendawan dan mikrofungi yang memiliki ukuran mikroskopis seperti kapang dan khamir (Gadjar, 2006). Selain itu fungi juga dibedakan berdasarkan morfologinya menjadi tiga yaitu khamir (*yeasts*), kapang (*molds/moulds*), dan cendawan (*mushrooms*). Cendawan merupakan fungi yang memiliki ukuran makro karena memiliki tubuh buah yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Khamir merupakan fungi uniseluler yang memiliki cara untuk melakukan reproduksi secara aseksual dengan pembentukan tunas (*budding*). Kapang merupakan

Menurut Sarah *et al.* (2015), kingdom fungi dibagi menjadi 6 filum yaitu Basidiomycota, Ascomycota, Glomeromycota, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Zygomycota, dan Neocallimastigomycota. Neocallimastigomycota merupakan fungi anaerob yang hidup didalam pencernaan herbivora dan aktivitas metabolismenya didorong oleh dekomposisi polisakarida dalam serat makan dipencernaan inangnya. Glomeromycota memiliki habitat tumbuh didalam jaringan akar tumbuhan. Chytridiomycota memiliki ciri khusus berupa flagella yang dimiliki oleh sel sporanya yang disebut zoospora. Zygomycota dapat menghasilkan sporangium sebagai spora aseksual dan zigospora sebagai spora seksual. Basidiomycota menghasilkan spora seksual berupa basidiospora.

Fungi memiliki bentuk vegetatif yang khas berbentuk tallus. Hifa yang dimiliki fungi dapat memiliki septa dan tanpa septa yang berbentuk panjang dan memiliki banyak inti. Contoh kelas yang memiliki septa adalah Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes. Sedangkan yang tidak memiliki septa adalah Oomycetes dan Zygomycetes. Untuk menghubungkan antar sel pada septum dibuat suatu lubang yang disebut pora yang membantu protoplasma berpindah. Dalam perkembangannya hifa akan membentuk struktur yang memiliki fungsi khusus seperti:

- a. Haustorium untuk membantu penyerapan unsur hara.
- b. Sclerotium untuk melindungi dari keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan.
- c. Apresorium untuk melekat pada sumber makanan dan untuk menembus jaringan inang.

tidak menimbulkan gejala negatif pada tumbuhan inang yang menjadi tempat hidupnya (Praptiwi *et al*, 2018). Fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan mampu menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan tumbuhan inangnya (Zhao *et al*, 2010). Berdasarkan kemampuannya, fungi endofit dapat digunakan sebagai salah satu sumber memproduksi metabolit sekunder sehingga dapat dimanfaatkan dalam beberapa bidang kesehatan seperti bidang farmasi dan kedokteran (Strobel, 2003). Potensi mikroba tersebut dipelajari untuk ikut berkontribusi dalam berbagai keperluan seperti industri dan pertanian (Melliawati *et al*, 2006).

Asosiasi yang dilakukan antara fungi endofit dan tumbuhan inang berawal dari fungi endofit yang menginfeksi jaringan tumbuhan pada bagian ovula dan disebarkan dengan memanfaatkan organ penyerbukan ataupun dari fungi endofit yang menginfeksi tumbuhan inangnya melewati air dan udara (Carrol, 1988). Asosiasi yang terjadi antara fungi dengan inangnya terjadi secara mutualisme dengan kemampuan fungi endofit dalam melindungi tumbuhan inangnya dari berbagai macam patogen virulen yang merugikan (Sofiyani, 2014). Tumbuhan yang tersebar diseluruh dunia berpotensi untuk berasosiasi dengan satu atau lebih mikroba endofit baik berupa fungi atau bakteri yang menghasilkan metabolit sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antikanker, antimalarial, antioksidan dan antibiotik lainnya. Hal ini dikarenakan terjadinya kompetisi nutrisi antara jamur endofit yang merebut nutrisi dari patogen sehingga menyebabkan pertumbuhan patogen terhambat karena terjadi perubahan pada hifa patogen (Kurnia *et al.*, 2014).

Fungi endofit Clavicipitaceous merupakan fungi endofit dari golongan Ascomycota yang menginfeksi tumbuhan rumput Gramineae yang tergolong tanaman sereal dengan cara penetrasi langsung atau dengan struktur infeksi seperti apresorium (Gambar 2.3). Pada simbiosis ini diperlihatkan rangkaian interaksi dari parasitisme sampai mutualisme. Endositik timbal balik memberikan keuntungan yang selektif pada inangnya dengan memproduksi racun anti-serangga dan anti-vertebrata yang melindungi tumbuhan inangnya dari serangga atau hewan herbivora (Sarah, 2015).

Alasan spesifik dalam menentukan tumbuhan yang akan digunakan sebagai inang untuk isolasi endofit dapat menggunakan strategi sebagai berikut: (Strobel & Daisy, 2003)

- a. Tumbuhan dari lingkungan yang unik, artinya memiliki keadaan biologi tidak biasa karena punya strategi baru dalam bertahan hidup.
- b. Tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani (dimanfaatkan oleh masyarakat adat) yang terkait dengan penggunaan spesifik atau aplikasi yang menarik. Tanaman dipilih lewat kontak langsung dengan masyarakat atau dari literatur lokal.
- c. Tumbuhan yang bersifat endemik dan memiliki umur panjang.
- d. Tumbuhan yang hidup didaerah dengan keanekaragaman hayati yang tinggi.

diriwayatkan oleh Imam Bukhori yang artinya “*cendawan bagian dari karunia dan airnya dapat menjadi penyembuh (sakit) mata*” (An-Najjar, 2010).

Berdasarkan hadits diatas dapat dilihat bahwa beberapa fungi memiliki manfaat yang baik pada kehidupan Rosulullah. Manusia yang diberkahi harus melakukan penelitian dan penggalian terkait manfaat lebih lanjut dari fungi. Jenis fungi yang banyak diteliti pada masa ini adalah fungi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan. Fungi endofit memiliki beberapa peran antara lain sebagai berikut :

- a. Meningkatkan ketahanan dan pertahanan tumbuhan pada tekanan abiotik.

Beberapa spesies dari fungi endofit memiliki kemampuan dalam membuat fitohormon seperti auksin, etilen, sitokinin (Bacon dan Hinton, 2002). Selain itu juga fungi endofit berperan dalam membantu tumbuhan menyerap zat hara (Hallmann *et al.*, 1997). Fungi endofit mampu membantu ketahanan tumbuhan pada tekanan abiotik dengan cara senyawa oksigen reaktif yang dihasilkan oleh fungi endofit digunakan untuk mengoksidasi atau denaturasi membran sel inang sehingga dapat memicu tumbuhan dalam ketahanannya. Selain itu endofit juga merupakan mikroorganisme yang banyak menghasilkan berbagai senyawa antioksidan, asam fenol, serta derivatnya yang memiliki peran untuk meningkatkan ketahanan tumbuhan dari tekanan luar (Aly *et al.*, 2011).

Simbiosis antara fungi endofit dan tumbuhan inangnya juga memiliki cara lain untuk meningkatkan adaptasi tumbuhan terhadap lingkungan yang tidak terlalu menguntungkan. Seperti fungi *Neotyphodium coenophialum* yang membantu tumbuhan pada sistem

Umumnya fungi endofit dapat tumbuh dari spora yang terbang diudara ataupun dari vektor seperti serangga (Ghimire dan Hyde, 2004). Fungi endofit pada tanaman tebu dapat masuk kedalam jaringan tanaman melewati akar lateral yang masih baru tumbuh dan kemudian berkembang didalam jaringan tersebut dan merubah dinding sel sebagai fasilitas untuk endofit lain dalam mengkolonisasi (Bellone dan Silvia, 2012).

2.5. Isolasi

Isolasi merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendapatkan suatu mikroorganisme dengan cara memisahkan dari lingkungannya. Proses awal atau pretreatmen dalam melakukan isolasi fungi endofit harus memperhatikan karakteristik dari substrat atau inang tempat fungi endofit tumbuh untuk keberhasilan dalam proses isolasi (Shintia, 2017). Metode yang digunakan untuk melakukan isolasi fungi endofit adalah metode *surface sterilization* yang diambil dari organ tumbuhan dengan keadaan masih segar (Agusta, 2009). Metode tersebut digunakan untuk membunuh semua mikroba yang ada dipermukaan tumbuhan (Waheeda and Shyam, 2017). Metode sterilisasi ini menggunakan alkohol dan hipoklorit sebagai disinfektan. Disinfektan digunakan untuk disinfeksi dalam upaya menghilangkan sebagian besar organisme patogen. Sedangkan alkohol digunakan untuk proses sterilisasi dalam upaya membunuh atau menghilangkan semua organisme. (Moran, 2018).

- Warna balik (putih, kuning, coklat, hitam, dll)
- 2) Karakteristik sporangia
- Susunan sporangiospora (multispora, sporangiola, merosporangium)
 - Susunan sporangiofor (tidak bercabang atau bercabang)
 - Bentuk sporangium (piramida, bulat, labu, dll)
 - Kolumela (ada atau tidak)
 - Apofisis (ada atau tidak)
 - Rhizoid (ada atau tidak (dilihat pada media agar))
- 3) Karakteristik konidia
- a) Karakteristik konidia
- Septa (bersel satu, dua, atau multisel)
 - Bentuk (bola, sub-bola, piramida, klavat, elipsoidal, dll)
 - Warna (hialin atau berpigmen gelap)
 - Jenis konidia (mikro, makro)
- b) Susunan konidia
- Kedudukan (tunggal atau dalam bola)
 - Catenulat (dalam rantai), acropetal (konidium muda diujung), basipetal (konidium muda di base)
- c) Pertumbuhan sel konidiogen
- Determinan (tidak ada pertumbuhan konidiofor setelah pembentukan konidia)
 - Simpodial (mode pertumbuhan sel konidiogen menghasilkan pengembangan konidia)

Menurut Ariani (2014) produk hasil fermentasi dapat dibedakan menjadi 4 macam yaitu bioetanol, enzim, metabolit, dan transformasi. Bahan-bahan yang dihasilkan dari proses fermentasi merupakan hasil dari metabolit mikroba. Media yang digunakan dalam proses fermentasi harus memenuhi beberapa hal sebagai berikut:

- a. Mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan sebagai sumber energi.
- b. Tidak mengandung zat untuk menghambat mikroba.
- c. Tidak terdapat kontaminan agar tidak terjadi perebutan dalam memperoleh nutrisi dari substrat.

Metode untuk melakukan fermentasi ada dua macam yaitu dapat dilakukan dengan kultur permukaan dan perendaman (Submerged). Untuk membuat kultur permukaan dapat digunakan semua bentuk media. Sedangkan untuk membuat kultur terendam hanya bisa digunakan media cair dengan bantuan incubator shaker. Kultur terendam akan memberikan kondisi yang lebih optimum daripada kultur permukaan dalam proses fermentasi mikroba. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efisiensi fermentasi antara lain: (Shintia, 2017)

- a. Substrat dan nutrisi untuk pertumbuhan mikroba.
- b. Derajat keasaman (pH) yang digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang diinginkan harus disesuaikan seperti kapang akan tumbuh optimum pada pH 5-7.

- c. Suhu yang digunakan dalam fermentasi merupakan suhu optimum untuk melakukan pertumbuhan. Mikroba mesofil optimum pada suhu 20-45 °C dan mikroba termofil optimum pada suhu 45 °C.
- d. Aerasi sangat penting untuk mengatur pemasukan O₂ dan pembuangan CO₂ sementara agitasi berperan agar pertumbuhan mikroba dapat merata.

Berdasarkan suhu atau temperature untuk pertumbuhan dan perkembangannya, mikroba dibedakan menjadi 3 yaitu psikrofil yaitu mikroba yang memiliki suhu pertumbuhan antara 0-20 °C. Kedua mesofil yaitu mikroba yang mampu bertahan pada kisaran suhu 20-45 °C dan ke tiga adalah termofil yaitu mikroba yang mampu bertahan pada suhu diatas 45 °C. Oleh sebab itu suhu dalam proses fermentasi perlu diperhatikan (Fifendy, 2017)

Menurut Bachruddin (2014), fase pertumbuhan mikroba dibagi menjadi 4 yaitu fase lag yang merupakan fase adaptasi bagi mikroba. Kedua fase log yang merupakan keadaan dimana sangat mendukungnya kondisi lingkungan seperti cukupnya nutrisi yang ada dan tidak adanya faktor penghambat sehingga membuat kecepatan pertumbuhan tinggi. Ketiga adalah fase stasioner yang merupakan fase tidak adanya kenaikan maupun penurunan pertumbuhan yang disebabkan mulai berkurangnya nutrisi yang tersedia. Keempat adalah fase kematian yang terjadi akibat mikroba mengalami stress karena nutrisi sudah tidak mencukupi lagi.

Produk yang dihasilkan pada fase log adalah senyawa metabolit intermediet esensial sebagai penyusun komponen sel, seperti protein, nukleotida, karbohidrat, asam nukleat, dan asam amino. Produk tersebut

(Droge, 2002). Tubuh manusia juga menghasilkan radikal bebas secara alami dalam metabolismenya seperti *reactive nitrogen species* (RNS) dan *reactive oxygen species* (ROS) (Alisi *et al.*, 2008).

2.11. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting untuk melawan radikal bebas karena antioksidan dapat menyumbangkan elektronnya yang akan membuat radikal bebas menjadi stabil. Antioksidan yang diproduksi didalam tubuh manusia berfungsi untuk mengontrol radikal bebas seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Paparan radikal bebas dari luar tubuh menyebabkan antioksidan yang diproduksi oleh tubuh manusia tidak dapat mengatasi sampai terjadi stress oksidatif, oleh sebab itu perlunya pemberian asupan antioksidan yang berada dari luar tubuh manusia (Lobo *et al.*, 2010).

Senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah golongan fenol dan polifenol yang banyak ditemukan didalam jaringan tumbuhan seperti karotenoid, vitamin C, dan vitamin E. Antioksidan sangat penting digunakan sebagai tolak ukur terhadap kesehatan manusia dengan melihat reaksi oksidasi didalam tubuh. Radikal bebas yang berada didalam tubuh manusia seperti ROS dan RNS tidak selalu memberikan dampak yang merugikan, salah satu fungsi dari senyawa oksidan reaktif bagi tubuh manusia adalah digunakan untuk membunuh bakteri pathogen yang masuk didalam tubuh. Oleh sebab itu antioksidan sangat diperlukan untuk tetep menjaga kestabilan antara antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh (Winarsi, 2007).

menggambarkan suatu senyawa yang terkandung didalam bahan alam seperti tumbuhan. Skrining fitokimia dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna yang terjadi akibat reaksi pada sampel yang telah diberi pereaksi. Poin penting pada metode skrining fitokimia adalah pemilihan senyawa pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti *dkk*, 2008).

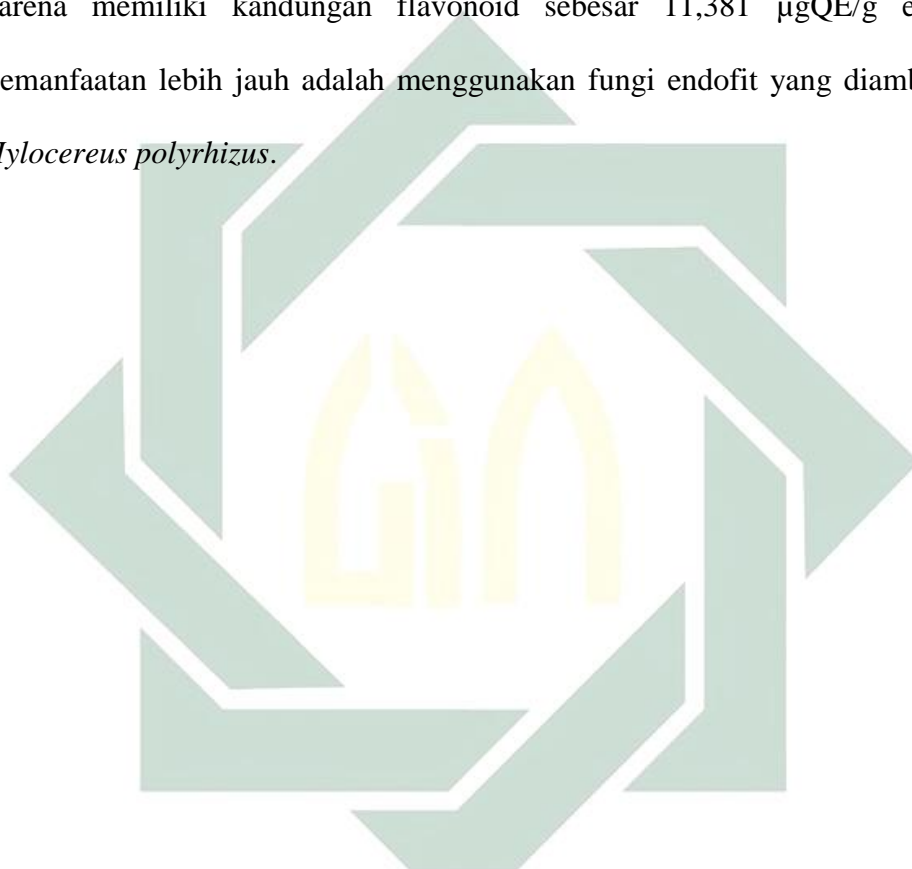
Fitokimia merupakan suatu disiplin ilmu yang memiliki tujuan utama pembelajaran tentang unsur-unsur kimia tumbuhan (Mendoza and Silva, 2018). Senyawa fitokimia sendiri merupakan senyawa kimia yang berasal dari tumbuhan yang baik dikonsumsi karena dapat memberikan manfaat kesehatan secara medis. Fitokimia yang berasal dari bahan nabati juga terbukti berperan penting dalam menjaga kesehatan kita. Berbagai macam penelitian telah dikembangkan tentang senyawa fitokimia yang dapat berperan aktif dalam melindungi tumbuh dari serangan penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit jantung (Tiwari *et al*, 2013). Selain digunakan dalam pengobatan penyakit degeneratif, senyawa fitokimia dalam bidang farmasi juga dimanfaatkan sebagai obat infeksi jamur dan bakteri (Mendoza and Silva, 2018).

Definisi lain tentang fitokimia menurut Mendoza and Silva (2018) menyatakan bahwa fitokimia dapat diartikan sebagai ilmu yang bertanggung jawab dalam mempelajari senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan. Senyawa-senyawa tersebut merupakan molekul atau produk metabolik hasil dari proses metabolisme sekunder yang tidak menjadi kebutuhan pokok dari organisme yang menghasilkannya namun dapat dimanfaatkan dalam bidang

Flavonoid terdistribusi disemua bagian tumbuhan seperti nektar, bunga, daun, batang, buah, dan biji. Kuersetin menjadi tolak ukur dalam menentukan kandungan total flavonoid yang berada pada ekstrak suatu tanaman. Analisis kandungan flavonoid akan dibantu dengan menambahkan $AlCl_3$ yang merupakan asam lewis agar dapat bereaksi dengan sampel yang mengandung flavonoid dan akan membentuk suatu ikatan kompleks dengan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid. Perubahan pada sampel akan diidentifikasi menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Pengamatan secara visual pada sampel akan terlihat pada kadar flavonoid yang tinggi memiliki warna kuning yang semakin pekat dan kadar rendah akan membuat sampel memiliki warna kuning semakin pudar (Neldawati, 2013).

Senyawa flavonoid yang ada didalam tumbuhan jarang sekali ditemukan dalam keadaan aglikon atau tunggal akan tetapi dalam bentuk glikosida. Oleh sebab itu dalam menganalisis flavonoid diperlukan untuk melakukan hidrolisis pada glikosida untuk memecah ikatannya dengan flavonoid. Proses hidrolisis untuk mendapatkan bentuk tunggal flavonoid dapat menggunakan HCl yang mampu menghidrolisis o-glikosil pada glikosida. Ketika glikosil terhidrolisis maka atom H^+ dari larutan HCl yang punya keelektronegatifan kuat akan menggantikan posisi glikosil. Serbuk Mg yang ditambahkan menyebabkan ion magnesium berikatan dengan senyawa flavonoid sehingga terbentuk senyawa kompleks yang memiliki warna merah. Panjang gelombang senyawa flavonoid dapat dilihat pada tabel 2.2 (Ridho, 2013).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah buah naga merah karena memiliki kandungan flavonoid sehingga berpotensi sebagai antioksidan untuk membantu dalam menangkal radikal bebas. Berdasarkan hasil dari penelitian Widianingsih (2017) dapat diketahui bahwa buah naga merah memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami karena memiliki kandungan flavonoid sebesar 11,381 $\mu\text{gQE/g}$ ekstrak. Pemanfaatan lebih jauh adalah menggunakan fungi endofit yang diambil dari *Hylocereus polyrhizus*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan dengan metode eksplorasi dengan cara mengisolasi fungi endofit dari bagian kulit dan buah tumbuhan buah merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang didapatkan dari Desa Wringinputi Kecamatan Muncar Kabupaten Banyuwangi. Selain itu jenis penelitian ini adalah kualitatif deskriptif. Penelitian kualitatif merupakan penelitian yang ditandai dengan tujuannya dalam memahami aspek-aspek tertentu dan menghasilkan kata-kata atau pernyataan bukan angka sebagai data yang akan dianalisis ((McCusker & Gunaydin, 2014). Penelitian kualitatif ini dilakukan dengan cara melakukan penelitian kualitatif di Laboratorium dan memakai beberapa sumber literasi dari buku-buku dan jurnal penelitian terkait. Sedangkan disebut deskriptif karena dilakukan dengan cara menggambarkan suatu tema yang dipaparkan dengan apa adanya.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Integrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya dan dimulai pada bulan Desember 2019 sampai dengan bulan Juli 2020 (Tabel 3.1)

Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

| No | Kegiatan | Bulan | | | | | |
|----|-----------------------------|-------|-----|-----|-----|-----|------|
| | | Okt | Nov | Des | Jan | Feb | Juli |
| 01 | Pembuatan Proposal & Sidang | ■ | ■ | | | | |
| 02 | Persiapan Penelitian | | ■ | ■ | | | |
| 03 | Proses Penelitian | | | ■ | ■ | ■ | |
| 04 | Pembuatan Draft Skripsi | | | | | ■ | ■ |
| 05 | Seminar Hasil | | | | | | ■ |

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer (tutup) 250 ml, pengaduk kaca, spatula besar, spatula kecil, inkubator shaker, labu ukur 5 ml, kertas saring Whatman no.1, nampan, *Laminar Air Flow* (LAF) cabinet, autoklasf, petri disk, bunsen, botol flakon, jarum ose, oven, inkubator, pinset, corong pisah, corong, pipet ukur 10 ml, statif, kertas label, oven, beaker glass, tabung reaksi, gelas ukur, gelas arloji, rak tabung reaksi, timbangan analitik, pipet ukur, vortex, alumunium foil, mikroskop, gelas objek, gelas cover, masker, hand glove, kertas tisu, kapas, alat tulis, kamera.

3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), akuades, etanol p.a, etanol 70%, metanol p.a, alkohol 70%, magnesium, plastik wrap, kapas, tisu, HCl, kloramfenikol, PDB, PDA, dan natrium hipoklorit 5,3%.

b. Pembuatan Media PDB untuk Fermentasi

Media PDB suspensi dibuat dengan menimbang 24 gram media dalam 1000 mL akuades yang dimasukkan kedalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil kemudian seluruh bahan dalam erlenmeyer dipanaskan sampai mendidih diatas *hot plate* dan diaduk menggunakan strirer hingga media menjadi homogen. Media yang telah homogen dilakukan sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm.

3.4.3. Isolasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Naga Merah

Isolasi fungi endofit pada kulit buah naga merah yang merupakan inang dilakukan berdasarkan metode dari Praptiwi *et al.* (2015). Sampel tumbuhan dibilas menggunakan air kran kemudian disterilisasi dengan cara melakukan perendaman secara berturut-turut dalam etanol 70% selama 2 menit, larutan natrium hipoklorit 5,3% selama 5 menit, etanol 70% selama 30 detik, setelah itu sampel dibilas dengan akuades steril sebanyak dua kali selama 2-5 detik. kemudian dikeringkan dalam kondisi yang aseptis. Sampel yang sudah kering dipotong kecil (1x1 cm²) dan dibelah sehingga jaringan dalamnya terlihat menggunakan pisau steril. Setelah itu sampel diletakkan didalam media PDA yang telah disiapkan dengan posisi jaringan bagian dalam diletakkan pada permukaan media. Selanjutnya sampel

diinkubasi selama 1 minggu didalam suhu ruang. Semua proses dilakukan didalam *Laminar Air Flow* (LAF).

Akuades pada bilasan terakhir digunakan sebagai kontrol dengan mengambil 1 ml yang diletakkan dalam media PDA yang baru. Apabila pada media tumbuh fungi maka dapat dipastikan sampel tersebut bukan fungi endofit. Pengamatan pada kontrol dilakukan 2 hari sekali seiring pertumbuhan fungi endofit (Tirtana *et al*, 2013).

3.4.4. Subkultur untuk Pemurnian Fungi Endofit

Fungi endofit yang tumbuh setelah proses isolasi di subkultur pada media PDA baru. Subkultur dilakukan dengan mengambil biakan yang dianggap berbeda menggunakan jarum ose berdasarkan morfologi makroskopis yakni bentuk dan warna koloni. Subkultur terus dilakukan sampai memperoleh isolat tunggal atau murni jamur endofit. Fungi endofit diinkubasi pada suhu 25 °C selama 3-14 hari. Semua proses dilakukan didalam LAF.

3.4.5. Pembuatan *Stock Culture*

Proses *Stock Culture* dan *Working Culture* dilakukan dengan cara menginokulasi koloni tunggal dari proses pemurnian kedalam 4 cawan petri yang berisi media PDA. Inokulasi dilakukan dengan cara memotong media PDA yang telah ditumbuhi jamur endofit dengan ukuran 1x1 cm dan

selanjutnya diinokulasi pada media PDA baru. Empat cawan petri yang berisikan biakan murni tersebut diinkubasi selama 7 hari sampai terjadi sporulasi. Kemudian 2 cawan diambil dan disimpan dalam suhu 4 °C digunakan sebagai stock culture.

3.4.6. Identifikasi Fungi Endofit

Isolat tunggal yang telah didapatkan diidentifikasi dengan menggunakan bantuan buku dari Ellis & Ellis (1985), Watanabe (2002), Webster & Weber (2007), Gadjar (1999). Isolat fungi endofit diidentifikasi dengan cara melihat pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Umumnya upaya pertama untuk melakukan identifikasi adalah dengan cara membandingkan ciri-ciri yang dimiliki isolat fungi tersebut dengan spesies fungi yang telah dikenal. Selain menggunakan panduan buku identifikasi yang telah disebutkan diatas, beberapa database online dapat digunakan sebagai cara untuk mendapatkan deskripsi, distribusi, daftar spesies dan lain sebagainya. Contoh database yang dapat digunakan seperti:

<https://mycology.adelaide.edu.au>

<https://microbenotes.com>

Pengamatan karakter makroskopis isolat fungi endofit dilakukan dengan cara melihat morfologi koloni seperti pada warna koloni, warna *reverse* koloni (balik), tekstur permukaan koloni (granular, seperti kapas,

HCl pekat beberapa tetes. Reaksi positif mengandung flavonoid dibuktikan dengan terbentuknya warna jingga atau merah magenta.

3.4.9. Potensi Antioksidan Isolat Fungi Endofit

Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan teknik atau metode *literatur review* yaitu mengumpulkan data-data yang telah diketahui dari hasil penelitian terkait sebelumnya kemudian dikaitkan dengan pembahasan dari uji kualitatif. Sumber literatur yang diambil harus dari sumber yang terpercaya. Setelah data-data yang diperlukan telah terkumpul, maka dilakukan proses analisis data tersebut. Metode tersebut digunakan dengan harapan mampu memberi pemahaman yang utuh dengan teknik seperti:

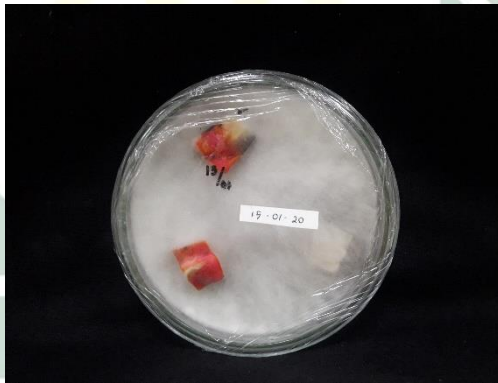
- a. Kutipan langsung, adalah tidak merubah isi dari sumber rujukan yang diambil.
- b. Kutipan tidak langsung, adalah menulis inti bacaan dari sumber rujukan.

Berdasarkan teknik yang telah disebutkan diatas diharapkan dapat membantu dalam upaya mengetahui potensi isolat fungi endofit yang telah diisolasi dari kulit buah *Hylocereus polyrhizus*.

3.5. Analisis Data

Data yang didapatkan pada penelitian ini, dianalisis secara deskriptif .

Sementara alkohol juga digunakan untuk membunuh dan menghilangkan semua organisme, sehingga sampel bisa menjadi benar-benar steril (Moran, 2018). Setelah dilakukan sterilisasi, maka isolasi jaringan kulit buah tumbuhan *Hylocereus polyrhizus* akan menghasilkan isolat fungi endofit yang tumbuh dari dalam jaringan kulit buah tersebut karena faktor kontaminan dari luar jaringan kulit buah telah disterilkan. Setelah masa inkubasi 7 hari, isolat fungi endofit yang tumbuh dalam media PDA. Isolat fungi endofit dari jaringan kulit *H. polyrhizus* dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Fungi endofit tumbuh dari dalam jaringan kulit buah *H. polyrhizus* (Data pribadi, 2020)

Fungi endofit yang tumbuh dari jaringan kulit buah *H. polyrhizus* kemudian dimurnikan untuk mendapatkan isolat fungi endofit yang murni. Berdasarkan hasil pemurnian, telah didapatkan 2 isolat murni fungi endofit yang berbeda seperti yang terlihat pada gambar 4.2. dan gambar 4.3. Fungi endofit yang telah dimurnikan dan diletakkan kedalam masing-masing cawan kemudian diinkubasi selama 7 hari dalam suhu ruang.

Sampel pada penelitian ini diambil dari bagian kulit buah tumbuhan *H. polyrhizus* yang digunakan untuk isolasi fungi endofit. Pertimbangan dalam mengambil tumbuhan untuk isolasi fungi endofit ditentukan berdasarkan Strobel dan Daisy (2003) sebagai berikut: (1) tumbuhan memiliki asal lingkungan yang unik sehingga punya keadaan biologis yang tidak biasa serta kemampuan dalam bertahan hidup pada kondisi krisis, (2) tumbuhan etnobotani atau biasa dimanfaatkan masyarakat, (3) tumbuhan endemik, (4) dan tumbuhan yang hidup dalam area dengan keanekaragaman hayati yang tinggi. *H. polyrhizus* dipilih sebagai sampel untuk melakukan isolasi fungi endofit karena tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang telah diuji memiliki metabolit sekunder yang salah satunya dapat digunakan sebagai antioksidan, selain itu kulit buah *H. polyrhizus* banyak tidak dimanfaatkan oleh masyarakat pada umumnya oleh sebab itu perlunya dilakukan penelitian untuk menyelidiki potensi dalam dunia pengobatan sebagai upaya mengembangkan industri pengobatan.

Hasil dari penelitian ini menjadi bukti bahwa fungi endofit merupakan mikroorganisme yang hidup berasosiasi didalam jaringan fungsional tumbuhan seperti daun, kulit, batang, dan buah. Serta tumbuhan yang menjadi inang tidak mendapat gejala negatif dan dalam keadaan sehat sehingga tidak menjadi ancaman bagi tumbuhan itu sendiri (Praptiwi *et al*, 2018). Pada tumbuhan tingkat tinggi dapat berasosiasi dengan beberapa jenis fungi endofit yang dapat memproduksi

senyawa metabolit sekunder yang disebabkan transfer genetik atau koevolusi dari tumbuhan inang kedalam fungi endofit (Nisa, 2018). Oleh sebab itu penelitian ini telah menunjukkan bahwa fungi endofit memiliki potensi untuk menggantikan tumbuhan aslinya sebagai produsen metabolit sekunder untuk industri pengobatan.

Pemurnian isolasi fungi endofit yang tumbuh pada media PDA dimurnikan berdasarkan ciri morfologinya dan didapatkan hasil 2 isolat fungi endofit yang kemudian diberi kode isolat FE1 dan FE2. Kedua isolat fungi endofit tersebut kemudian diidentifikasi berdasarkan dari ciri-ciri morfologi makroskopik dan mikroskopik sehingga dapat diketahui jenis dari isolat fungi endofit tersebut.

4.2. Identifikasi Isolat Fungi Endofit

4.2.1. Identifikasi Isolat FE1

Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik pada isolat FE1 dari kulit buah tumbuhan *Hylocereus polyrhizus* terlihat seperti pada tabel 4.1 (makroskopik) dan tabel 4.2 (mikroskopik).

Tabel 4.1. Hasil pengamatan makroskopik isolat FE1

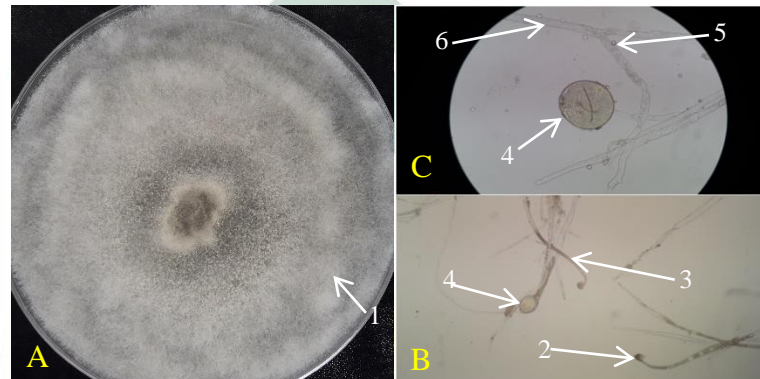
| Warna permukaan koloni | Warna balik koloni | Tekstur permukaan koloni | Tepi koloni |
|---|--------------------|--------------------------------|---------------|
| Putih menjadi abu-abu dengan perkembangan sporangia | Putih kekuningan | <i>Cottony</i> (seperti kapas) | Teratur, rapi |

(Data pribadi, 2020)

Tabel 4.2. Hasil pengamatan mikroskopik isolat FE1

| Susunan Sporangiofor | Bentuk Sporangia | Sporangiospora | Kolumela | Apofisis | Rhizoid |
|---------------------------|------------------|--------------------------------|----------|-----------|-----------|
| Tegak dan tidak bercabang | bulat | Multispora dan berbentuk bulat | ada | Tidak ada | Tidak ada |

(Data pribadi, 2020)



Gambar 4.2. Visualisasi Isolat FE1. (A) Visualisasi isolat FE1 secara makroskopik. (B) Visualisasi dalam pengamatan mikroskopik pada perbesaran 100x mikroskop binokuler (C) 400x perbesaran.

Keterangan: 1. Koloni fungi endofit FE1 pada media PDA, 2. Kolumela, 3. Sporangiofor, 4. Sporangia bulat tanpa apofisis, 5. Sporangiospora bulat, 6. Hifa hialin dan tidak bersepta.

(Sumber: Dok. pribadi, 2020).

Koloni dari isolat FE1 tumbuh sampai menutupi permukaan media PDA didalam cawan petri (gambar 4.2A). Isolat FE1 diamati memiliki penampilan yang halus dan menyerupai permen kapas. Pada bagian depan koloni memiliki warna yang putih pada awalnya namun akan berubah menjadi coklat keabu-abuan pada beberapa waktu kemudian. Pada bagian baliknya memiliki warna putih bersih. Pada pengamatan yang telah dilakukan pada FE1 terlihat memiliki hifa yang tidak bersepta serta bagian yang dapat dilihat antara lain sporangiofor, sporangia, dan spora. Hifa

memiliki warna hialin atau transparan. Sporangiofor memiliki bentuk yang tegak dan pendek. Kemudian pada sporangium yang telah pecah terlihat bagian kolumela yang merupakan ujung dari sporangiofor tanpa adanya apofisis. Berdasarkan pengamatan isolat FE1 memiliki sporangia yang berbentuk bulat yang berwarna abu-abu hingga hitam dengan sporangiospora yang berada didalamnya. Pada pengamatan juga terlihat sporangiospora yang menyebar akibat dari pecahnya dinding sporangium, sporangiospora memiliki bentuk yang bulat atau kadang-kadang sedikit lonjong. Hasil pengamatan isolat fungi endofit FE1 secara makroskopik dan mikroskopik dapat dilihat pada gambar 4.2. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut diduga isolat FE1 masuk kedalam genus *Mucor* sp. Identifikasi berdasarkan Watanabe (2010) dan Webster & Weber (2007) menunjukkan bahwa isolat FE1 dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Subkingdom : Eumycota
Filum : Zygomycota
Kelas : Zygomycetes
Ordo : Mucorales
Famili : Mucoraceae
Genus : *Mucor*

Mucor sp. pada media PDA memiliki ciri-ciri morfologi koloni yang berwarna putih dan akan menjadi coklat ke abu-abuan pada saat umurnya telah semakin tua. Warna balik atau *reverse* akan berubah dari putih menjadi putih kekuningan (Gadjar, 1999; Nguyen *et al.* 2016). Sporangium memiliki bentuk bulat dengan ukuran diameter antara 50-300 μm dengan warna abu-abu sampai hitam. Didalam sporangium terdapat sporangiospora yang apabila sporangium pecah maka sporangiospora akan tersebar dengan bebas dan kolumela dapat terlihat yang bersifat hyaline (seperti kaca) atau dematiaceous (berwarna kecoklatan) (Mycology, 2016). Menurut Ellis (2007) menyatakan bahwa pada awal pertumbuhan *Mucor* sp. memiliki warna putih dan perlahan menjadi keabu-abuan sampai hitam dengan seiring bertambahnya usia isolat fungi endofit yang merupakan hasil dari perkembangan sporangia. Menurut Watanabe (2002) menyatakan bahwa ciri-ciri genus *Mucor* adalah tidak terbentuk *visicle*, sporangia berbentuk bulat tanpa adanya apofisis, sporangia memiliki kolumella, dan tidak membentuk rhizoid. Pernyataan tersebut menjadi pendukung bahwa isolat fungi endofit FE1 diduga masuk kedalam genus *Mucor* sp.

4.2.2. Identifikasi Isolat FE2

Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik selanjutnya adalah isolat FE2, fungi endofit dari kulit buah tumbuhan *Hylocereus polyrhizus* terlihat seperti pada tabel 4.3 (makroskopik) dan tabel 4.4 (mikroskopik).

Tabel 4.3. Hasil pengamatan makroskopik isolat FE2

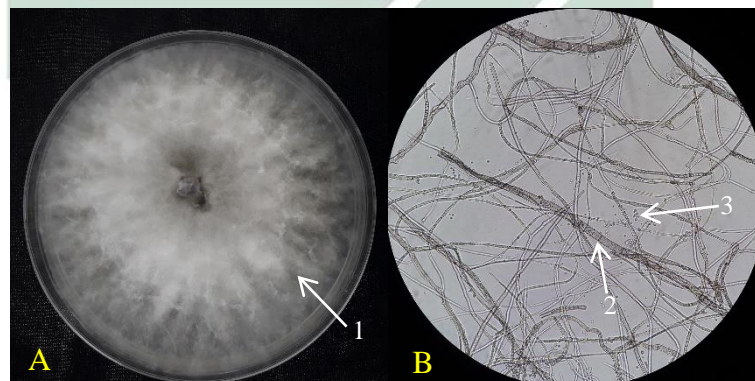
| Warna permukaan koloni | Warna balik koloni | Tekstur permukaan koloni | Tepi koloni |
|------------------------|--------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Putih | Abu-abu | <i>Cottony</i> (seperti kapas) | Tidak teratur, tidak rapi |

(Data pribadi, 2020)

Tabel 4.4. Hasil pengamatan mikroskopik isolat FE2

| Bentuk | Konidia | | | Hifa | |
|--------|---------|-------------------------|---------------|--------|-------|
| | Warna | Septa | Jenis | Warna | Septa |
| Bulat | Hialin | Tidak ada / bersel satu | Mikro konidia | Hialin | Ada |

(Data pribadi, 2020)



Gambar 4.3. Visualisasi isolat FE2 (A) Visualisasi isolat FE2 secara Makroskopik (B) Visualisasi isolat FE2 secara Mikroskopik pada perbesaran 100x.

Keterangan: 1. Koloni fungi endosit isolat FE2 yang tumbuh memenuhi media PDA, 2. Hifa berseptum dan berwarna hialin (transparan), 3. Konidia berbentuk bulat bersel satu dan berwarna hialin.

(Sumber: Dok. Pribadi, 2020).

Hasil pengamatan menunjukkan koloni FE2 tumbuh sampai menutupi permukaan media PDA (gambar 4.3A). Pada hasil pengamatan makroskopis terlihat bahwa isolat FE2 memiliki warna abu-abu pada bagian balik koloni dan warna putih pada bagian permukaan koloni. Pada pengamatan mikroskopik terlihat isolat fungi FE2 memiliki gifa yang berseptata (selat) serta berwarna hialin (transparan). Selain itu terlihat juga konidia yang memiliki ukuran mikro karena bersel satu. Konidia yang terlihat memiliki bentuk bulat dengan warna hialin (gambar 4.3B). Identifikasi isolat FE2 dilakukan berdasarkan Watanabe (2010) menunjukkan bahwa isolat FE2 memiliki hifa yang berseptata sehingga tidak dimasukkan kedalam kelompok Zygomycota. Pengamatan pada hifa juga tidak menunjukkan adanya penjepit penyambung (*clamp connection*) pada hifa sehingga tidak dimasukkan kedalam kelompok Basidiomycota. Pengamatan selanjutnya adalah pengamatan pada spora. Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa isolat FE2 memiliki spora yaitu berupa konidia dengan bentuk bulat dan berwarna hialin. Sesuai dengan buku identifikasi dari Watanabe (2010), Berdasarkan ciri-ciri hasil identifikasi yang telah didapatkan, isolat FE2 masuk kedalam kelompok Deuteromycetes.

Menurut Barnett & Hunter (1998) menjelaskan bahwa kelompok Deuteromycetes dibagi menjadi empat ordo yaitu Moniliales,

Sphaeropsidales, Melanconiales, dan Mycelia sterilia. Moniliales memiliki konidiofor dan konidia yang terbentuk bebas dan tersebar diatas miselium. Sphaeropsidales memiliki konidiofor dan konidia yang terkandung didalam tubuh buah aseksual yang disebut *pycnidia*. Melanconiales memiliki konidia yang biasanya diproduksi dalam kondisi alami didalam aservulus serta tubuh buah berbentuk piring terbuka. Mycelia sterilia adalah fungi yang secara genetik tidak mampu menghasilkan konidia atau sel reproduksi.



Deuteromycetes merupakan kelompok fungi imperfek karena belum diketahui fase seksualnya. Sehingga banyak jenis fungi yang belum diketahui fase seksualnya dimasukkan kedalam kelompok ini. Namun setelah fase seksual telah ditemukan, biasanya akan dimasukkan kedalam kelompok Ascomycota atau Basidiomycota. Deuteromycetes tidak dimasukkan kedalam kategori taksonomi formal. Karena fungi-fungi dalam kelompok ini bukanlah unit monofiletik, namun fungi-fungi ini hanya belum diketahui fase seksualnya. Dengan menggunakan teknik molekuler atau ultrastruktur dapat digunakan untuk mengetahui jenis fungi secara lebih jelas sehingga dapat dikelompokkan kedalam kelas-kelas yang sudah ada (Gadjar, 2006).

4.3. Uji Kandungan Flavonoid

4.3.1. Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Fermentasi fungi endofit dilakukan dengan menggunakan media PDB dengan volume 250 ml media untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Inokulasi dilakukan pada fungi endofit yang telah mencapai usia 7 hari dan dimasukkan ke media cair dan diinkubasi selama 4 minggu. Hal ini dilakukan berdasarkan Wulansari *et al.* (2016). Hasil fermentasi dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Warna media PDB setelah fermentasi fungi endofit.

| No | Isolat | Warna | Gambar |
|----|--------|-------------------|--|
| 1 | FE1 | Coklat kehitaman |  (Sumber: Dok. Pribadi, 2020) |
| 2 | FE2 | Coklat kekuningan |  (Sumber: Dok. Pribadi, 2020) |

Keterangan: FE1 adalah kode isolat fungi endofit yang diduga masuk golongan genus *Mucor*. FE2 adalah kode isolat fungi endofit diduga masuk kedalam kelompok Deuteromycetes
(Data pribadi, 2020)

Warna media dari kedua fungi endofit tersebut berbeda setelah proses fermentasi. Proses selanjutnya adalah pemanenan isolat fungi endofit yang dilakukan dengan menyaring media cair tersebut untuk memisahkan miselium menggunakan kain saring sambil diperas-peras kemudian disaring lagi menggunakan kertas saring. Data hasil panen fungi endofit dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Hasil fermentasi isolat fungi endofit kulit buah *H. polyrhizus*

| No | Isolat | Volume filtrat (ml) | Berat Basah (g) | Berat Kering (g) | % Rendemen |
|----|--------|---------------------|-----------------|------------------|------------|
| 1 | FE1 | 197 | 23,98 | 1,02 | 4,25% |
| 2 | FE2 | 130 | 102,44 | 2,57 | 2,51% |

(Data pribadi, 2020)

Proses fermentasi pada fungi endofit dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan media PDB pada ruangan yang memiliki suhu 26 °C agar pertumbuhan menjadi optimal. Proses fermentasi dilakukan untuk memaksimalkan proses produksi senyawa metabolit sekunder. Produksi metabolit sekunder fungi endofit terjadi pada fase stasioner dan pada akhir fase stasioner fungi endofit akan mengalami penurunan yang signifikan dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Pokhrel & Ogha, 2007). Media cair dipilih dalam proses fermentasi fungi endofit karena lebih efektif untuk menghasilkan biomassa serta senyawa metabolit sekunder dibandingkan menggunakan media padat (Pokhrel & Ogha, 2007).

Perubahan warna yang terjadi pada media PDB diakibatkan oleh adanya pertumbuhan fungi endofit yang berada didalam media. Dalam media tersebut terdapat aktivitas fungi endofit seperti metabolisme dan terjadinya penambahan massa sel pada media sehingga membuat 2 media yang ditumbuhi oleh jenis fungi endofit yang berbeda memiliki hasil warna dan kekeruhan yang berbeda pada media. Aktivitas fungi endofit yang berada media PDB adalah proses pembentukan metabolit sekunder yang dilakukan fungi endofit (Gadjar, 2006).

Berat miselium yang diperoleh dari pemanenan isolat fungi endofit memiliki jumlah yang berbeda. Berat miselium yang didapatkan dari pemanenan isolat fungi FE1 lebih sedikit dibandingkan berat yang diperoleh dari isolat fungi FE2 (tabel 4.6.). Pertumbuhan fungi endofit pada masing-masing spesies yang berbeda memiliki kecepatan yang berbeda pula. Kecepatan pertumbuhan dapat dilihat pada pertumbuhan dan pertambahan dari ukuran diameter koloni fungi dalam rentang waktu tertentu (Sinaga *et al*, 2009). Pertumbuhan isolat fungi endofit FE1 memiliki pertumbuhan yang lambat sehingga membuat miselium yang tumbuh menjadi lebih sedikit dari miselium yang dihasilkan isolat fungi endofit FE2. Hal ini juga menjadi data pendukung bahwa isolat FE1 dan FE2 merupakan jenis fungi endofit yang berbeda. Faktor yang menjadi

penyebab perbedaan kecepatan fungi untuk tumbuh diduga karena kemampuan adaptasi dan pertumbuhan dari setiap jenis fungi yang berbeda-beda (Wati *et al.* 2019). Penelitian yang dilakukan oleh Emilia (2017) tentang isolasi fungi endofit dari buah dan daun strawberry menunjukkan tiga jenis isolat fungi endofit yang berbeda, juga memiliki kecepatan tumbuh yang berbeda-beda. Isolat fungi endofit tersebut adalah *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., dan *Mucor* sp.

4.3.2. Ekstraksi Isolat Fungi Endofit

Miselium hasil penyaringan kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu sebesar 40 °C selama 24 jam. Suhu yang digunakan selama melakukan proses pengeringan biomassa harus dijaga dan ditentukan dengan teliti karena menjadi pengaruh yang sangat signifikan. Senyawa bioaktif yang banyak dimanfaatkan sebagai antiparasit ataupun antioksidan merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap suhu panas dan dapat rusak karna menyebabkan perubahan pada strukturnya jika diletakkan pada suhu diatas 60 °C serta mengakibatkan penurunan dalam produksi ekstraksinya (Haijun *et al.*, 2010). Menurut Syafrida *et al.* (2018) menyatakan bahwa kandungan flavonoid pada suatu sampel dapat menjadi turun apabila dikeringkan dalam suhu yang tinggi.

Miselium direndam dengan menggunakan etanol p.a. pada perbandingan miselium : etanol (1:3) selama 24 jam. Etanol dipilih sebagai pelarut karena merupakan salah satu pelarut polar yang cocok untuk melarutkan senyawa flavonoid, karena senyawa flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya dibentuk dari ikatan glikosida sehingga pelarut yang dibutuhkan juga harus memiliki sifat polar (Salmia, 2016). Hasil ekstraksi miselium fungi endofit didapatkan ekstrak fungi endofit yang berwarna kuning kehijauan (gambar 4.4.) dan total ekstrak FE1 dan FE2 masing-masing didapatkan sebanyak 25 ml. Pada filtrat tidak terbentuk lapisan ketika dilakukan pengocokan. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh filtrat dan etanol sama-sama memiliki sifat polar.



Gambar 4.4. Ekstrak Miselium FE2 menggunakan etanol p.a.
(Dok. Pribadi, 2020)

4.3.3. Uji Kualitatif Flavonoid

Skrining fitokimia kandungan flavonoid pada ekstrak fungi endofit dari kulit buah *H. polyrhizus* dilakukan secara kualitatif yakni menggunakan serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl. Hasil uji yang

didapatkan terlihat kedua sampel ekstrak fungi endofit terjadi perubahan warna menjadi jingga. Namun pada ekstrak FE2, warna jingga terlihat lebih kuat daripada reaksi warna jingga pada FE1. Hal ini diduga bahwa produksi senyawa flavonoid pada FE1 lebih sedikit daripada FE2. Sampel yang mengandung flavonoid, yang ditambahkan pereaksi mg dan HCl akan terbentuk warna kuning, jingga sampai merah (Ergina & Pursitasari, 2014). Hasil pengujian kandungan flavonoid dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil uji fitokimia flavonoid dari isolat fungi endofit

| No | Ekstrak | Hasil Pengujian | Fungi Endofit |
|----|---------|-----------------|------------------|
| 1 | FE1 | Positif (+) | <i>Mucor</i> sp. |
| 2 | FE2 | Positif (++) | Deuteromycetes |

Ket: (+++) = banyak; (++) = sedang; (+) = sedikit

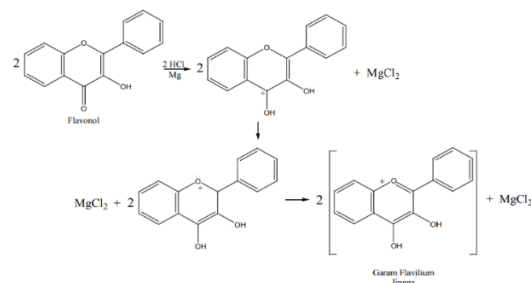
FE1 adalah kode isolat fungi endofit yang diduga masuk golongan genus *Mucor* sp.

FE2 adalah kode isolat fungi endofit yang diduga masuk kedalam genus Deuteromycetes (Dok. Pribadi, 2020)

Menurut Salmia (2016) bahwa reaksi yang terjadi akibat dari penambahan Mg dan HCl menyebabkan sampel yang memiliki kandungan flavonoid akan mengalami perubahan warna dari jingga sampai merah. Hal ini terjadi akibat inti benzopiron yang berada pada struktur senyawa flavonoid mengalami reduksi setelah penambahan Mg dan HCl karena terjadi reaksi oksidasi-reduksi antara flavonoid dan logam Mg yang berperan sebagai pereduksi (Salmis, 2016). Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan pada sampel, diketahui telah terjadinya perubahan warna pada sampel menjadi jingga, hal ini menjadi salah satu parameter untuk menduga bahwa sampel dari ekstrak miselium fungi endofit memiliki

kandungan flavonoid. Hal ini membuktikan bahwa fungi endofit yang berasosiasi dengan buah naga merah juga mampu menghasilkan senyawa yang mirip dengan inangnya. Karena berdasarkan penelitian yang dilakukan Paramita *et al.* (2015) menyatakan bahwa kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki kandungan flavonoid.

Peran HCl didalam uji flavonoid adalah untuk melakukan hidrolisis pada senyawa flavonoid yang terkandung didalam sampel untuk diubah menjadi aglikonnya. Proses ini terjadi akibat dari O-glikosil yang terhidrolisis kemudian digantikan oleh H dari HCl karena memiliki sifat elektrofilik. Menurut Robinson (1985) bahwa reaksi yang terjadi akibat dari reduksi logam Mg dan asam HCl pekat menyebabkan pembentukan senyawa kompleks dengan warna jingga sampai merah. Warna tersebut diakibatkan inti benzopiron didalam flavonoid tereduksi membuat garam flavilium telah terbentuk (Ergina & Pursitasari, 2014). Reaksi terbentuknya garam Flavilium dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.
(Sumber: Ergina & Pursitasari, 2014).

Flavonoid merupakan salah satu dari senyawa antioksidan yang mampu menghambat reaksi oksidasi berbahaya radikal bebas dengan cara enzimatik atau non enzimatik. Oleh sebab itu senyawa flavonoid menjadi senyawa pereduksi yang baik (Ilyas, 2013). Senyawa flavonoid merupakan keberadaan paling umum dan besar didunia fungi dan tumbuhan baik dari tumbuhan tingkat rendah sampai tumbuhan tingkat tinggi. Flavonoid dapat berubah warna apabila ditambahkan basa atau amoniak karena flavonoid berupa senyawa fenol sehingga mudah dideteksi pada larutan atau kromatogram (Harborne, 1996).

Warna jingga yang terbentuk pada hasil ekstrak dari fungi endofit menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kandungan flavonoid didalamnya yang merupakan salah satu dari senyawa berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid sendiri merupakan golongan senyawa fenolik yang dibentuk oleh fungi endofit (Agusta, 2009).

Berdasarkan hasil uji tersebut dapat diketahui bahwa fungi endofit yang diisolasi dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang sama seperti inangnya. Karena uji fitokimia flavonoid yang telah dilakukan pada berbagai penelitian tentang ekstrak kulit buah naga merah menunjukkan

hasil positif sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kandungan flavonoid. Penelitian yang dikukan oleh La *et al.* (2020) tentang skrining fitokimia kulit buah naga merah menunjukkan bahwa ekstrak buah naga merah memiliki kandungan flavonoid. Dari hasil tersebut dapat diketahui dan dibuktikan bahwa ekstrak fungi endofit dari kulit buah naga dan ekstrak dari kulit buah naga sama-sama memiliki kandungan flavonoid.

Menurut Kuncoro & Sugijanto (2011) bahwa fungi endofit yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti tumbuhan inangnya dikarenakan adanya koevolusi atau proses transfer (*Genetic Recombination*). Sementara itu menurut Sachin *et al.* (2012) bahwa mekanisme yang menjadi dasar produksi metabolit sekunder suatu tumbuhan oleh fungi endofit masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Namun, mekanisme yang memungkinkan fungi endofit dalam menghasilkan senyawa flavonoid dapat diduga dengan melewati jalur biosintesis flavonoid pada umumnya. Jalur biosintesis flavonoid menurut Santos (2017) dapat digunakan untuk mengklasifikasikan jenis flavonoid yang dihasilkan. Ciri-ciri flavonoid adalah memiliki 15 atom karbon yang menjadi kerangka dasar dengan bentuk susunan C6-C3-C6 membentuk 2 cincin aromatik A dan B yang dihubungkan oleh unit 3 atom karbon.

bahwa isolat fungi endofit *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., dan *Aspergillus* sp. dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dibuktikan dengan uji fitokimia, salah satunya adalah senyawa flavonoid. Selain itu, penelitian yang dilakukan Nisa (2018) juga telah melaporkan bahwa isolat fungi endofit dari daun *Chromolaena odorata* yakni *Fusarium* sp., dan *Mucor* sp. memiliki kandungan metabolit sekunder berdasarkan uji fitokimia.

4.4. Potensi sebagai Antioksidan

Berdasarkan hasil identifikasi isolat fungi endofit dari kulit buah *Hylocereus polyrhizus* telah diketahui bahwa isolat FE1 masuk kedalam genus *Mucor* dan FE2 masuk kedalam kelas Deuteromycetes yang keduanya menunjukkan hasil positif memiliki kandungan flavonoid dalam uji fitokimia.

Tabel 4.8. Potensi antioksidan *Mucor* sp. dari berbagai inang

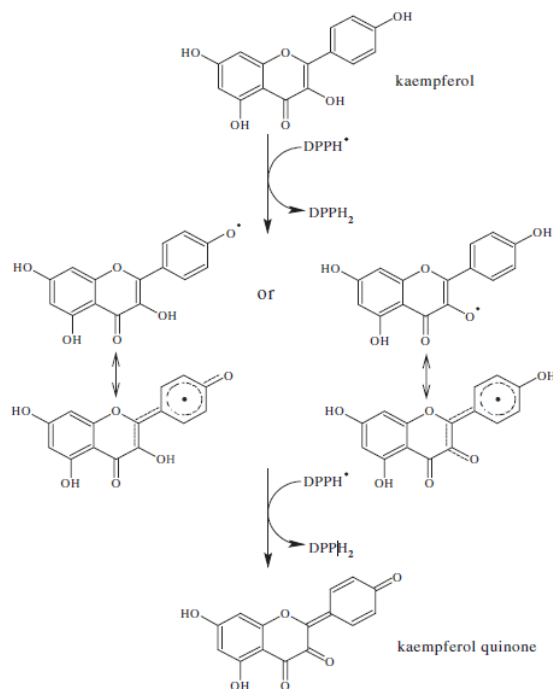
| No | Fungi Endofit | Tumbuhan Inang | Ekstrak | IC 50 | Tipe Uji | Referensi |
|----|------------------|--|----------------|----------------|-------------------------------------|--|
| 1 | <i>Mucor</i> sp. | <i>Lithospermum officinale</i> L. | Metanol | 191,3 µg/ml | - | Mollaei, Saeed <i>et al.</i> , 2019 |
| 2 | <i>Mucor</i> sp. | <i>Lobelia nicotianifolia</i> | Metanol | 240 µg/ml | Uji Pemulung Radikal DPPH* | Nitya, K <i>et al.</i> , 2011 |
| 3 | <i>Mucor</i> sp. | <i>Taxus fuana</i> | Etil Asetat | 53,9 µg/ml | Uji Pemulung Radikal DPPH* | Fatima, N <i>et al.</i> , 2016 |
| 4 | <i>Mucor</i> sp. | <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi | Etil Asetat | 238,8 mg/g | Uji Pemulung Radikal DPPH* | Rocha, P. D. S. D <i>et al.</i> , 2020 |

*DPPH- *Diphenylpicrylhydrazyl*

Untuk mengetahui potensi sebagai antioksidan maka *literature review* dilakukan pada isolat FE1 (*Mucor* sp.) karena klasifikasinya lebih spesifik. Hasil *literature review* dapat dilihat pada tabel 4.8. Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui isolat fungi endofit pada kulit buah *Hylocereus polyrhizus* yang diduga memiliki kemiripan dengan fungi endofit pada tabel memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan. Senyawa flavonoid yang diduga terkandung didalam ekstrak isolat fungi endofit dari kulit buah *Hylocereus polyrhizus* merupakan salah satu dari senyawa metabolit sekunder potensial yang dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Pada tabel 4.8 selain digunakan untuk membuktikan potensi isolat fungi endofit FE1 yang memiliki ciri-ciri mirip dengan genus diatas juga digunakan sebagai bukti bahwa penelitian tentang senyawa antioksidan yang diproduksi oleh fungi endofit dari berbagai tanaman yang berbeda juga telah sangat dikembangkan.

Tabel 4.8. menunjukkan uji aktifitas antioksidan dengan menggunakan DPPH sebagai molekul yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. Potensi fungi endofit sebagai antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC50 yang terdapat pada tabel. IC50 merupakan nilai minimum hambat yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa dalam melakukan penangkalan atau penghambatan radikal bebas. Senyawa yang memiliki kemampuan dalam menghambat radikal bebas digolongkan menjadi senyawa antioksidan. Flavonoid merupakan salah satu

golongan senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Hal ini disebabkan karena flavonoid memiliki ikatan rangkap dan kelompok terkonjugasi (hidroksil atau yang lain) yang dapat menyumbangkan elektronnya untuk menyetabilkan radikal bebas (Gupta, 2016). Selain itu, Gupta *et al* (2016) menambahkan bahwa flavonoid memiliki suatu mekanisme yang berbeda-beda dalam menghadapi beberapa jenis radikal bebas seperti pembilasan radikal bebas, inaktivasi peroksida, dan spesies oksigen reaktif (ROS) lainnya. Sifat pemulungan senyawa radikal terkait dengan struktur flavonoid yang bertahan terhadap stress oksidatif sehingga dengan demikian bisa mengurangi atau mencegah terjadinya penyakit jantung, kanker, serta memperlambat proses penuaan didalam sel yang menjadi penyebab timbulnya penyakit degeneratif. Flavonoid dapat mengurangi efek radikal bebas dengan cara mendonorkan atom H dari *orthohidroxylys* cincin B sehingga sifat reaktif pada radikal bebas akan berkurang. Setiap jenis flavonoid memiliki mekanisme tersendiri dalam melakukan aktifitas pemulungan atau penangkalan terhadap radikal bebas (Dimitrios *et al.* 2006). Mekanisme flavonoid dalam menangkalkan senyawa reaktif radikal bebas dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7. Mekanisme pemulungan radikal bebas DPPH oleh flavonoid.
(Sumber: Dimitrios *et al*, 2006)

Kaempferol merupakan salah satu dari jenis flavonoid. Kaempferol dapat bereaksi dengan cepat terhadap radikal bebas DPPH dan memiliki laju yang konstan. Setelah menyumbangkan satu atom H pada DPPH, ikatan H akan menekan delokalisasi elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat melakukan sumbangan atom H kedua pada radikal DPPH yang lain. Kaempferon merupakan jenis flavonoid cincin B monohidroksil yang tidak memiliki ikatan H intramolekul (permanen) yang terjadi akibat dari melakukan pemulungan terhadap satu molekul DPPH. Elektron yang tidak berpasangan akan terdelokalisasi dan menghasilkan

فَقَالَ أَنْتَدَاوَى؟ اللَّهُ، رَسُولَ يَا فَقَالَ الْأَعْرَابُ، وَجَاءَتْ وَسَلَّمْ، عَلَيْهِ اللَّهُ صَلَّى النَّبِيِّ عِنْدَ كُنُثِ
 وَاحِدٍ دَاءٍ غَيْرِ شِفَاءَ لَهُ وَضَعِ إِلَّا دَاءً يَضَعُ لَمْ وَجَلَّ عَزَّ اللَّهُ فَإِنَّ تَدَاوَوْا، اللَّهُ، عِبَادَ يَا نَعَمْ
 الْهَرَمُ: قَالَ هُوَ؟ مَا: قَالُوا

Hadits ini dari Rosulullah SAW yang diriwayatkan oleh Musnad Imam Ahmad dari Shohabat Usamah bin Suaraiq yang berkata: aku pernah berada disamping Rosulullah, kemudian datang rombongan orang arab badui, mereka bertanya pada Rosulullah: “Wahai Rosulullah, bolehkah kami berobat?” Rosulullah menjawab: “Iya, wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab Allah tidak menurunkan sebuah penyakit melainkan juga menurunkan obatnya, kecuali satu penyakit” mereka bertanya:”Penyakit apa itu?” Rosulullah menjawab:”Penyakit tua”.(HR. Ahmad).

Rosulullah SAW telah memberikan contoh dalam melakukan pengobatan terhadap diri, keluarga, dan para shohabatnya dengan cara memakai berbagai jenis obat-obatan alami. Rosulullah menggunakan tiga jenis obat dalam melakukan pengobatan yaitu obat alamiah, ilahiyah, dan mengkombinasikan keduanya. Pengobatan yang didasarkan petunjuk dari wahyu Allah tentang sesuatu yang memiliki manfaat dan sesuatu yang memiliki bahaya. Seperti pengobatan dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan. Banyaknya jenis tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi ini menjadi salah satu sarana kita untuk merenungkan tentang kekuasaan Allah SWT. Banyaknya jenis tumbuh-tumbuhan sekaligus dapat dimanfaatkan

untuk melakukan isolasi fungi endofit untuk mendapatkan beragam jenis fungi dan manfaatnya dalam menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan tumbuhan inangnya tanpa perlu sehingga pemanfaatan tumbuhan dapat dikendalikan untuk menjaga ekosistem alam dan menjaga dalam upaya mengurangi kerusakan yang telah terjadi di alam, terkhusus untuk tumbuhan langka yang memiliki potensi sebagai obat yang besar. Hadits yang telah dijelaskan diatas didukung oleh firman Allah SWT dalam surat Asy syu'ara ayat 7:

كَرِيمٍ زَوْجٍ كُلِّ مِنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَمْ الْأَرْضِ إِلَى يَرَوْا أَوْلَمَ

Artinya: “dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapa banyaknya kami telah menumbuhkan di bumi berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. Asy-Syu'ara:7).

Kata *karim* digunakan dalam menggambarkan sesuatu yang mulia dan baik. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang memiliki manfaat serta subur dalam perkembangan dan pertumbuhannya. Pada firman Allah SWT dalam surat Asy Syu'ara yang telah disebutkan diatas, Allah SWT menciptakan bumi dengan diisi oleh berbagai macam tumbuhan yang baik dan dapat diambil manfaat oleh makhluk hidup lain seperti tumbuhan *Hylocereus polyrhizus*.

Sedangkan dalam menjaga bumi dari kerusakan salah satunya dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan fungi endofit untuk menggantikan tumbuhan inang sebagai salah satu upaya mengurangi berbagai kerusakan di alam seperti yang dijelaskan dalam firman Allah SWT pada surat Ar rum ayat 41:

yang relevan karena beberapa gen fungi mulai banyak tersedia dalam database publik seperti GenBank yang berada di pusat nasional untuk mencari informasi Bioteknologi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Selain itu juga perlu melakukan uji terhadap kadar flavonoid kuantitatif dan antioksidan ekstrak fungi endofit dari kulit buah *Hylocereus polyrhizus* secara eksperimental untuk mengembangkan dan mempelajari penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya untuk lebih mengetahui potensi dan manfaat ekstrak fungi endofit sebagai antioksidan.

- Britton, N. L. and Rose, J. N. 1920. *The Cactacea: Description and Illustrations of Plant of the Cactus Family, Vol. 2*. Dover. New York.
- Carlile, M. J., Watkinson, S. C., and G. W. Gooday. 2001. *The Fungi*. Academic Press. California.
- Carrol, G. C. 1988. *Fungal Endophytes in Stems and Leaves*. From Latent Pathogens to Mutualistic Symbiont. Ecology.
- Ceicedo, N. H., Davalos, A. F., Puante, p. A., Rodriguez, A. Y., Caicedo, P. A. 2019. Antioxidant Activity of Exo-metabolites Produced by *Fusarium oxysporum*: An Endophytic Fungus Isolated from Leaves of *Otoba gracilipes*. *Microbiology Open*. 1-8
- Chilton, S.N., J.P. Burton and G. Reid. 2015. Inclusion of Fermented Foods in Food Guides around the World. *Nutrients*. 7: 390-404.
- Deacon, J. W. 2006. *Fungal Biolog 4th Edition*. BlackWell Publishing. UK.
- Devaraju, R. & S. Satish. 2011. Endophytic mycoflora of *Mirabilis jalapa* L. And Studies on Antimicrobial Activity of its Endophytic *Fusarium* sp. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 2(1): 75-79
- Dimitrios, I., Tsimogiannis, Oreopoulou, V. 2006. The Contribution of Flavonoid on The DPPH Free Radical Scavenging Efficiency. A Kinetic Approach for The 3',4'-hydroxyl Substituted Members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 7: 140-146.
- Dhani, S. R., dan Y. Yamasari. 2014. Rancang Bangun Sistem Pakar untuk Mendiagnosa Penyakit Degeneratif. *Jurnal Manajemen Informatika*. 3(2): 17-25.
- Droge, W. 2002. Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* 8(2): 47-95.
- Du, G., Zhao, H. Y., Song, Y. L., Zhang, Q.W., Wang, Y. T. 2011. Rapid simultaneous determination of isoflavones in *Radix puerariae* using high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with novel shell-type column. *J. Sep. Sci.* 34(19): 2576–2585.
- Dreyfuss, M. M, Chapela, I. H. 1994. *Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals*. In: *Gullo VP, editor. The Discovery of Natural Products with Therapeutic Potential*. MA: Butterworth-Heinemann. Stoneham
- Ellis, M. B. 1993. *Dematiaceous hyphomycetes*. International Mycological Institute, London.

- Ellis, M. B. and J. P. Ellis. 1985. *Microfungi on Land Plant, An Identification Handbook*. Macmillan Publishing Company. New York.
- Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursotasari. 2014. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang diekstaksikan dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kimia*. 3(3): 165-172
- Fatmia, N., Kondratyuk, T. P., Park, E., Marler, L. E., Jadoon, M., Qazi, M. A., Mirza, H. M., Khan, I., Atiq, N., Chang, L. C., and S. J. M. Pezzuto. 2016. Endophytic Fungi Associated with *Taxus fuana* (West Himalaya Yew) Potensial Bio-Resources for Cancer Chemopreventive Agents. *Pharmaceutical Biology*. 54(11): 2547-2554.
- Fatima, Z., Abderrahmane, B., Seddik, K., and A. Lekhmici. 2016. Antioxidant Activity Assessment of *Tamus communis* L. Roots. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 8(12): 64-71.
- Ferreya, F., Rius, S. P., Casati, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*. 3:1-15.
- Fifendy, Mades. 2017. *Mikrobiologi Edisi Pertama*. Kencana. Depok
- Gao F. K., Ch. Dai, and X. Z. Liu. 2010. Mechanisms Of Fungal Endophytes In Plant Protection Against Pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 4.
- Gadjar, I., Sjamsudrizal, W., dan A. Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gadjar, I., Samson, R. A., van den Tweel-Vermeulen, K., Oetari, A., dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Ghimire, S. R., and K. D. Hyde. 2004. *Fungal Endophyte*. dalam A.Varma, L. Abbott, D.Werner, R.Hampp (Eds.). *Plant Surface Microbiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Gupta, J., Gupta, A., Gupta, A. K. 2016. Flavonoids: Its Working Mechanism and Virous Protective Roles. *International Journal of Chemical Studies*. 4: 190-198.
- Haijun Y, Zhang N, Zeng Q, Yu Q, Ke S, and Li X. 2010. HPLC Method for Simultaneous Determination of Ten Annonaceous Acetogenins after Supercritical Fluid CO₂ Extraction. *International Jurnal of Biomedical Science* 6:3, 202-7
- Hallman, J. A., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., and J. W. Kloeper. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43: 895-914.

- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Ed. 2*. ITB Press. Bandung.
- Hardjadinata, S. 2010. *Budi Daya Buah Naga Super Red secara Organik*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hoog, S. 2005. *Essential Microbiology*. John Wiley and Sons.
- Hogg, Stuart. 2013. *Essential Microbiology 2nd Edition*. John Wiley & Sons. UK
- Hor, S. Y., Ahmad, M., Farsi, E., Yam, M. F., Hashim, M. A., Lim, C. P., Sadikun, A., Asmawi, M. Z. 2012. Safety Assessment of Methanol Extract of Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) : Acute and Subchronic Toxicity Studies. *Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63 (1) : 106 –114.
- Ilyas, Asriany. 2013. *Kimia Organik Bahan Alam*. Alauddin University Press. Makassar.
- Isvadhila. 2012. Efek Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terfermentasi terhadap Kadar LDL dan HDL Tikus Putih Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Iwashina, T. 2013. Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales (Review). *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci.* 39: 25 –51
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi, Biology and Application*. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex.
- Khalimah, D. & E. Q. Ainy. 2019. Isolasi Fungi Endofit Daun Mangrove *Avicennia marina* dan Uji Aktivitasnya sebagai Antifungi terhadap *Candida albicans* ATCC. *Prosiding Symbion*. 298-305
- Kidd, S., Halliday, C., Alexiou, H., and D. Ellis. 2016. *Descriptions of Medical Fungi 3th Edition*. Newstyle Printing. South Australia.
- Kristianti, A., Aminan, N, N, S., Tanjung, M., dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kumala, Shirly., Yuliani, K. D., & Simanjuntak, P. 2015. Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi Isolated From Stems of Jati Tree (*Tectonagrandis Lf*). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(6), 2349
- Kuncoro, H. & N. E. Sugijanto. 2011. Mini Review Jmaur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya sebagai Sumber Obat Baru. *J. Trop. Pharm. Chem.* 1(3): 250-265.

- Kurnia, A. T., Pinem, M. I., dan Oemry, S. 2014. Penggunaan Jamur Endofit untuk Mengendalikan *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* dan *Alternaria solani* secara *in vitro*
- La, E. O. J., Sawiji, R. T., dan A. N. Yuliawati. 2020. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografis Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*. 3(1): 45-58
- Lobo, L. P. Patil, A., Phatak, A., and N. Candra. 2010. Free Radical, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmaconosy Rev*. 4(8): 118-126.
- Manihuruk, F. M., Suryati, T., and I. I. Arief. 2017. Effectiveness of the Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel Extract as the Colorant, Antioxidant, and Antimicrobial on Beef Sausage. *Media Peternakan*. 40(1):47-54
- Mann, J. 1995. *Secondari Metabolism*. 2th ed. Oxford University Press Inc. New York.
- Martati, T. & D. S. Gigin. 2016. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Iundonesia Ke-50*. 430-439.
- McCusker, K., & S. Gunaydin. 2014. Research Using Qualitative, Quantitative or Mixed Methods and Choice Based on The Research. *Perfusion*. 30(7): 537-542.
- Melliawati, Ruth, Widyaningrum, D.N., Djohan, A.C., Sukiman, H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas*. 7(3): 221-224.
- Mendoza, N., and E. M. E. Silva. 2018. *Introduction to Phytochemicals: Secondary Metabolites from Plants with Active Principles for Pharmacological Importance*. Phytochemicals-Source of Antioxidant and Role in Diseases Prevention.
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A. 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*. 19:16240-16265.
- Mollaei, S., Khanehbarndaz, O., Gerami-Khashal, Z., and M. Ebadi. 2019. Molecular Identification and Phytochemical Screening of Endophytic Fungi from *Lithospermum officinale* L. Roots: A New Source of Shikonin. *Phytochemistry*. 168.
- Moran, Sean. 2018. *An Applied Guide to Water and Effluent Treatment Plant Design 1st Edition*. Elsevier. USA.
- Mulu, M. Gaudencia. 2018. Formulasi Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Skripsi*. Politeknik Kesehatan KEMENKES Kupang. Kupang.

- Mycology, 2016. Fungal Descriptions and Antifungal Susceptibility; Zygomycota; Mucor. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/zygomycetes/mucor/> diakses Juli 2020
- Nabavi, S. M., Samec, D., Tomczyk, M., Luigis, M., Russo, D., Habtemariam, S., Sutar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., Xiao, J., Giampieri, F., Battino, M., Sobarzo-Sanchez, E., Nabavi, S. F., Yousefi, B., Jeadet, P., Xu, S., Shirooie, S. 2018. Flavonoid Biosynthetic Pathways in Plant: Versatile targets for Metabolic Engineering. *Biotechnology Advances*. 1-12.
- Nguyen, T. T. T., Duong, T. T., and H. B. Lee. 2016. Characterization of Two New Record of Mucoralean Species Isolated from Gut of Soldier Fly Larva in Korea. *Mycobiology*. 44(4): 310-313.
- Nitya, K., Murthy, K. C., Pushpalatha, and C. G. Joshi. 2011. Antioxidant Activity and Phytochemical Analysis of Endophytic Fungi Isolated from *Lobelia nicotifolia*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3(5): 218-225
- Nisa, Khoirun. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi Endofit dan Ekstrak Daun dari *Chromolaena odorata* terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Nuari, S., Anam, S., dan A, Khumaidi. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika : Galenika Journal of Pharmacy*. 3(2) : 118-125
- Nurliyana, R., Syed, Z. I., Mustapha, S. K., Aisyah, M. R., Kamarul, R. K. 2010. Antioxidant study of pulp and peel dragon fruits: A comparative study. *Int Food Res J*. 17:365-75.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., and A. R. Chandra. 2016. Flavonoid: an Overview. *Journal of Nutritional Science*. 5(47): 1-15.
- Pandey, Amita., and Shalini Tripathi. 2014. Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(5): 115-119.
- Paramita, V., Abidin, Z., Wikanta, D. K., Aini, F. N., Adiatma, A. L. 2015. Emulsifikasi Ekstrak Kulit dan Buah Naga Merah Menggunakan Xanthan Gum: Analisis Kadar Fenolik, Kadar Flavonoid dan Kestabilan Emulsi. *Metana*. 11(2): 13-20.

- Poerwanto, R. A., Munif, A., Nurmansyah, A., Wiyono, S., dan W. Sari. 2017. Keanekaragaman dan Patogenitas *Fusarium* spp. Asal Beberapa Kultivar Pisang. Institut pertanian Bogor. Bogor.
- Pokhrel, C. P. And S. Ohga. 2007. Submerged Culture conditions for mycelial yield and polysaccharides production by *lyophyllum decastes*. *Food Chemistry*. 105: 641-646.
- Pratiwi, Brasti Eka. 2015. Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri. *Skripsi*. Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah.
- Praptiwi., Raunsai, M., Wulansari, D., Fathoni, A., and A. Agusta. Antibacterial and antioxidant activities of endophytic fungi extracts of medicinal plants from Central Sulawesi. *Journal of Applied Pharmaceutical*. 8 (7): 069-074
- Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., Maligan, J. M., Nugrahini, N. I. P. 2016. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Gracinia mangostana* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1).
- Putri, T. Tiara. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Simvastatin terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Hiperkolesterolemia. *Skripsi*. FMIP. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Rahmawati, Emilia. 2017. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry (*Fragaria x ananassa*) sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. 9(2): 196-202.
- RISKESDAS, 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018. www.depkes.go.id diakses September 2019
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB Press. Bandung.
- Rozpadek, P., Domka, A. M., Nosek, M., Wazny, R., Jedrzejczyk, R. J., Wiciarz, M., and K. Turnau. 2018. The Role of Strigolactone in The Cross-Talk Between *Arabidopsis thaliana* and The Endophytic Fungus *Mucor* sp. *Journal List*. 9: 441.
- Sachin, N., Manjunatha, B. L., Kumara, P. M., Ravikanth, G., Swheta, S., Suryanarayanan, T. S., Ganeshiah, K. N., and R. U. Shaanker. 2012. Do

- Endophytic Fungi Possess Pathway Genes for Plant Secondary Metabolites?. *Current Science*. 104(2): 178-182.
- Sadananda, T. S., Govindappa, M., Ramachandra, Y. L. 2014. In Vitro Antioxidant of Lectin from Different Endophytic Fungi of *Viscum album* L. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 4(5): 626-643.
- Sadhana, Singh, Ashok Kumar Gupta, and Amita Verma. 2013. *Review On-Natural Compounds Used for Antioxidant Activity*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science*
- Salamah, Nina., dan Erlinda Widyasari. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1) : 25-34
- Salmia. 2016. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Alaluddin Makasar.
- Sastrahidayat, I. Rochdjatun. 2011. *Mikologi: Ilmu Jamur*. UB Press. Malang
- Selosse, M. A., Schardl, C. L., 2007. Fungal Endophytes of Grasses: Hybrids Rescued by Vertical Transmission An Evolutionary Perspective. *New Phytologist*: 452-458
- Septyaningasih, D. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Schulz, B., Haas, S., Junker, C., Andree, N., Schobert, M. 2015. Fungal Endophytes are involved in Multiple Balanced Antagonism. *Current Science*. 109: 39-45
- Schlaeppli, K., Bulgarelli, D., Schulz, B., Haas, S., Junker, C., Andree, N., Schobert, M. 2015. The Plant Microbiome at Work. *Molecul Plant-Microbe Interactions*. 28: 212-217
- Sinaga, E., Noverita, dan D. Fitria. 2009. Isolasi dan uji Aktivitas antibakteri Jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi*. 4.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an) vol. 10*. Lentera Hati. Jakarta.
- Shintia, Inna. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Kapang Endofit Makroalga *Eucheuma* sp.. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddinn, Makassar.

- Sholihah, R. I., Sritamin, M., dan I. N. Wijaya. 2019. Identifikasi Jamur *Fusarium solani* yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Batang pada Tanaman Buah Naga (*Hylocereus* sp.) di Kecamatan Bangorejo, Kabupaten Banyuwangi. *Agroekoteknologi Tropika*. 8(1): 91-102.
- Shylaja, G., Shoba, S., Uma, A., Mythili, S., and A. Sathiavelu. 2015. Endophytic Fungi with Antioxidant Activity-A Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 8(6) : 731-737
- Susilowati, 2018. Ekstraksi Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polrhizus*) secara Maserasi dan Microwave serta Uji Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.
- Syafrida, M., Darmanti, S., dan Izzati, M. 2018. Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air, Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Bioma*. 20(1): 44-50
- Tetti, Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal kesehatan*. 7(2): 361-367.
- Tiwari, B. K., Brunton, N. P., Brennan, C. 2013. *Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction*. Wiley-Blackwell. United States.
- Torres, M. S., & White, J. F., Jr. 2014. Endophytic fungi. In *AccessScience*. McGraw-Hill Education. <https://doi.org/10.1036/1097-8542.802450>
- Wahdaningsih, S., Wahyuono, S., Riyanto, S., Murwanti, R. 2018. Antioxidant Activity Of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus Polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton and Rose) Isolates Using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11 (1) : 124
- Wahdaningsih, S., Wahyuomo, S., Riyanto, S., and R. Murwanti. 2017. The Radical Scavenging Activity of 2-2' Diphenyl-1-Picrylhydrazil (DPPH) on The Methanol Extracts and Ethyl Acetate Fractions of The Red Dragon Fruit Pell (*Hylocereus polyrhizus* (F. A. C. Waber) Britton & Rose). *International Journal of Phytomedicine*. 9: 79-82
- Waheeda K and Shyam KV. 2017. Formulation of Novel Surface Sterilization Method and Culture Media for the Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants and it's Antibacterial Activity. *J. Plant. Pathol. Microbiol*. 8 : 399
- Watanabe, Tsuneo. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed fungi: Morphologies and Cultured Fungi and Key to Species*. 2nd ed. CRC Press. New York.

- Watanabe, Tsuneo. 2010. *Pictorial Atlas of Soil and Seed fungi: Morphologies and Cultured Fungi and Key to Species. 3th ed.* CRC Press. New York.
- Wati, R., Noverita, dan T. M. Setia. Keanekaragaman Jamur Makroskopis di Beberapa Habitat Kawasan Taman Nasional Baluran. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 12(2): 171-180.
- Webster, J. and R. W. S. Weber. 2007. *Introduction to Fungi, 3th Ed.* Cambridge University Press. New York.
- Widianingsih, Mastuti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) Hasil Maserasi dan Dipekatkan dengan Kering Angin. *Jurnal Wiyata*. 3(2) : 146-150
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Wu, L. C., Hsu, H. W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I. & Ho, J. A. 2006. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red Pitaya. *Food Chemistry*. 95: 319-327.
- Noverita, F. D., & E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang (*Zingiber ottensii* Val.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4): 171-176.
- Wulansari, D., Putra, A. P., Ilyas, M., Praptiwi., Fathoni, A., Palupi, K. D., dan A. Agusta. 2016. Skrining Beberapa Jamur Endofit Tumbuhan dari Pulau Enggano, Bengkulu sebagai Antibakteri dan Antioksidan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 15(3) : 107-319
- Yuanwar, B. D., & E. Q. Ainy. 2019. Isolasi Fungi endofit Kulit Mendtimun (*Cucumis sativus* L.) dan Evaluasi Aktivitas Penghambatannya terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231. *Prosiding Symbion*. 306-315.
- Yulianti, Titiek. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*. 11(2): 111 – 122
- Zhang, Q., Lin, L., and W. Ye. 2018. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: a Comprehensive Review. *Chinese Medicine*. 13(20): 1-26.
- Zhao J, Zhou L, Wang J, Shan T, Zhong L, Liu X and Gao X. 2010. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Current Research, Technology and Education in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology (A. Mendez Vilas-Ed)*