

AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN KAPANG ENDOFIT DARI TANAMAN MAHONI (*Swietenia macrophylla* King)

(*Antidiabetic and Antioxidant Activity of Endophytic Fungi from Mahogoni Plant
(Swietenia macrophylla King)*)

Edward J.Dompeipen¹ dan Partomuan Simanjuntak²

¹Baristand Industri Ambon, Jl.Kebun Cengkeh Ambon, Maluku, Indonesia 97128

²Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jl. Raya Bogor 46 Cibinong, Jabar, Indonesia 16911

e-mail: dompeipenedward@yahoo.com

Naskah diterima 19 September 2014, revisi akhir 7 April 2015 dan disetujui untuk diterbitkan 29 April 2015

ABSTRAK. *Diabetes mellitus* adalah penyakit degeneratif yang ditandai dengan adanya hiperglikemia akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni (*Swietenia macrophylla* King) yang aktif sebagai antidiabetes dan antioksidan. Aktivitas antidiabetes dilakukan dengan menggunakan metode inhibisi α -glucosidase dan aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Isolasi dilakukan pada media tanam Corn Meal Malt Agar (CMMA) dan Potato Dextrose Agar (PDA) dan diperoleh 7 isolat kapang. Aktivitas inhibisi α -glucosidase untuk ekstrak filtrat dan biomassa untuk isolat A.Sm.2F (72,59 dan 92,22%), A.Sm.3F (81,87 dan 79,37%), B.Sm.1F (63,40 dan 96,09%), B.Sm.2F (65,60 dan 62,72%), B.Sm.3F (93,91 dan 51,48%) dan B.Sm.4F (87,48 dan 74,64%) sehingga berpotensi sebagai antidiabetes. Isolat B.Sm.1F adalah satu-satunya isolat yang aktif sebagai antioksidan dengan IC_{50} sebesar 84,41.

Kata kunci: antidiabetes, antioksidan, mahoni, α -glucosidase, 2,2- diphenyl-1-
picrylhydrazyl

ABSTRACT. *Diabetes mellitus* is a degenerative disease characterized by hyperglycemia due to insulin deficiency either absolute or relative. This study was conducted to isolate endophytic fungi from plant twigs mahogany (*Swietenia macrophylla* King) which active as antidiabetic and antioxidant. Antidiabetic activity conducted by using the α -glucosidase inhibitory and antioxidant activity using free radical reduction method with reagent 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Isolation of microbes conducted in the media Corn Meal Malt Agar (CMMA) and Potato Dextrose Agar (PDA) which 7 isolates of fungus in total. Inhibitory activity against α -glucosidase to extract the filtrate and biomass of the isolates A.Sm.2F (72.59 and 92.22%), A.Sm.3F (81.87 and 79.37%), B.Sm.1F (63.40 and 98.84%), B.Sm.2F (65.60 and 62.72%), B.Sm.3F (93.91 and 51.48%), B.Sm.4F (87.48 and 74.64%) thus has potential as an antidiabetic activity. B.Sm.1F was the only isolates active as antioxidants with IC_{50} of 84.41.

Keywords: antidiabetic, antioxidant, *Swietenia macrophylla* King, α -glucosidase, 2,2-
diphenyl-1-picrylhydrazyl

1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah merupakan penyakit yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula darah yang lebih tinggi dari batas normal yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja

insulin atau keduanya sehingga memerlukan upaya penanganan yang tepat dan serius (Nurina, 2012). Diabetes mellitus dikategorikan sebagai penyakit global oleh *World Health Organization* (WHO) dengan jumlah penderita di dunia

mencapai 199 juta jiwa pada tahun 2009 (WHO, 2010). Menurut statistik dari studi *Global Burden of Disease* WHO tahun 2004, Indonesia menempati peringkat pertama di Asia Tenggara, dengan prevalensi penderita sebanyak 8.426.000 jiwa di tahun 2000 dan diproyeksi meningkat 2,5 kali lipat sebanyak 21.257.000 penderita pada tahun 2030 (Astiyandani, 2010). Pengendalian hiperglikemia pada penderita Diabetes mellitus antara lain melalui *tractus gastro-intestinalis* di perifer (Monica, *et.al.*, 2012), menekan produksi glukosa hepar, meningkatkan ambilan glukosa di perifer serta pendekatan terapi berupa penghambatan enzim penghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase dan α -glikosidase untuk memperlambat absorpsi glukosa serta mengkonsumsi obat antidiabetes (Nickavar & Nasibeh, 2009).

Glukosidase merupakan enzim kunci yang berperan dalam proses metabolisme karbohidrat yang terletak di bagian tepi permukaan sel usus halus, dan proses pembentukan glikoprotein dan glikolipid. Glukosidase bekerja dengan memecahkan karbohidrat menjadi glukosa di usus halus manusia. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas glukosidase merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes, karena mampu menurunkan kadar gula dalam darah (Gholamhoseinian, *et.al.*, 2008; Rout, *et.al.*, 2009). Senyawa yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor α -amilase dan α -glikosidase telah banyak diisolasi dari berbagai sumber hayati, seperti *acarbose* (obat oral hiperglikemia) yang diisolasi dari jamur *Actinoplanes utahanensis* dan *I-deoxynojirimycin* (Xue, *et.al.*, 2013). Inhibitor α -glikosidase yang potensial secara klinis antara lain adalah senyawa butirolaktone yang berasal dari ekstrak etil asetat *Aspergillus terreus* MC 751, memiliki IC_{50} sebesar $52,17 \pm 5,68$ ppm (Rizna, *et.al.*, 2014).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkap atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa

oksidan bisa dihambat (Sashikumar, *et.al.*, 2009). Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur dari kemampuannya meredam radikal bebas (Giorgio, *et.al.*, 2000; Shinta, *et.al.*, 2014). Radikal bebas yang biasa dipakai sebagai model dalam mengukur peredaman antioksidan adalah DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) karena cepat, sederhana dan mudah digunakan (Marxen, *et.al.*, 2007). Penderita diabetes memerlukan asupan antioksidan dalam jumlah besar karena peningkatan radikal bebas akibat hiperglikemia (Baynes, *et.al.*, 1999; Shinta, 2014). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga mempunyai sifat tidak stabil, paramagnetik dan sangat reaktif. Sifat radikal bebas mirip dengan suatu oksidan yang mempunyai kecenderungan untuk menangkap elektron. Radikal bebas dapat menimbulkan perubahan DNA antara lain hidroksilasi timin dan sitosin, permukaan inti purin dan pirimidin, serta putusannya rantai fosfodiester DNA. Perubahan DNA menimbulkan mutasi yang dapat menyebabkan kanker. Radikal bebas dapat merusak protein karena dapat bereaksi dengan asam amino sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya (Sies, 1993; Erawaty, 2012).

Stres oksidatif dan kerusakan oksidatif pada jaringan biasanya berakhir dengan timbulnya penyakit kronis diantaranya arterosklerosis, diabetes dan rematik atritis. Meningkatnya hasil glikosidasi dan liposidasi dalam plasma dan jaringan protein karena meningkatnya stres oksidatif pada diabetes mellitus. Bahan diabetonik dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel β , demikian pula pasien penderita diabetes sering mengalami stress oksidatif (Halliwell, *et.al.*, 1999; Erawaty, 2012). Komplikasi diabetes berkaitan dengan stress oksidatif khususnya pembentukan radikal bebas superoksida (Oberley, *et.al.*, 1998; Erawaty, 2012). Sumber stress oksidatif pada diabetes mellitus antara lain adalah perpindahan keseimbangan reaksi redoks karena perbedaan metabolisme karbohidrat dan lipid yang akan meningkatkan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen*

Species) dari hasil glikasi dan oksidasi lipid sehingga menurunkan sistem pertahanan antioksidan diantaranya Glutation (GSH) (Halliwell, *et.al.*, 1997; Erawaty, 2012). Hiperglikemia akan memperburuk dan memperparah pembentukan ROS melalui beberapa mekanisme (Tiwary, *et.al.*, 2002).

Potensi tumbuhan obat juga berhubungan dengan mikroorganisme yang hidup di jaringan tumbuhan. Mikroorganisme tersebut dikenal sebagai mikroba endofit, yaitu mikroba yang hidup dalam periode tertentu dan membentuk koloni di dalam jaringan tumbuhan tanpa merugikan inangnya (Andriana, *et.al.*, 2012). Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi (Dudeja, *et.al.*, 2012) atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau tranfer genetik dari tumbuhan inangnya ke dalam mikroba endofit (Souvik, *et.al.*, 2012). Kemampuan mikroba endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya merupakan peluang untuk mendapatkan sumber bahan obat antidiabetes yang alami, murah dan ramah lingkungan. Beberapa kajian tentang mikroba endofit terbukti memiliki potensi ekonomi yang tinggi sebagai bahan baku obat atau obat. Pada bidang industri farmasi mikroba endofit dapat menghasilkan enzim, vitamin, antioksidan, antimikroba, antikanker, anti-inflamasi dan agen farmakologi (Onifade, 2007; Rajangjulu, *et.al.*, 2011).

Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi mikroba endofit dari tumbuhan inangnya, membiakkan mikroba endofit tersebut ke dalam media sintetik dan menghasilkan metabolit sekunder yang sesuai dengan kandungan kimia di dalam tumbuhan inangnya tersebut. Strobel dan kawan-kawan yang berhasil mengisolasi mikroba kapang *Taxomyces andreana* dari tumbuhan *Taxus brevifolia*, kemudian membiakkan *in vitro* dan dapat memproduksi senyawa kimia diterpen taksol (Rajangjulu, *et.al.*, 2011). Simanjuntak, dkk. (2011) berhasil mengisolasi beberapa mikroba dari

tumbuhan *Cinchona* sp. Skrining dan identifikasi hasil fermentasi dalam media sintetik menunjukkan bahwa mikroba endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa alkaloid kuinina. Hasil ini menunjukkan bahwa peranan mikroba endofit untuk memproduksi senyawa metabolit sesuai dengan tumbuhan inangnya dapat diandalkan untuk dilanjutkan dalam produksi skala industri.

Tumbuhan mahoni memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidannya lebih tinggi dari kandungan pada buah pada umumnya. Selain itu di dalam kulit kayu mahoni juga terdapat berbagai senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antidiabetes dan antikolesterol (Falah, *et.al.*, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapang endofit dari tumbuhan mahoni yang berpotensi menghasilkan senyawa kimia yang memiliki aktivitas antidiabetes dan antioksidan yang dapat dimanfaatkan secara maksimal oleh industri farmasi dan tetap menjaga keanekaragaman sumber hayati.

2. METODE PENELITIAN

Koleksi dan Penyiapan Sampel Tumbuhan

Materi penelitian adalah ranting tumbuhan mahoni yang dikoleksi dari daerah di sekitar Bogor. Tumbuhan tersebut diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Penelitian Indonesia.

Steriliasi Permukaan

Ranting tumbuhan dengan panjang 2 cm dan diameter 1 cm dicuci dengan aliran air selama 10 menit. Setiap ranting dipotong menjadi empat masing-masing sepanjang 1 cm. Potongan ranting ini disterilisasi permukaannya dengan mencuci (merendam) dalam etanol 75% selama 1 menit, kemudian selama 5 menit dalam larutan NaOCl 5,3%, dan terakhir selama 0,5 menit dalam etanol 75% (Croizer, *et.al.*, 2006; Rahmi, *et.al.*, 2012).

Penyiapan Media Isolasi Kapang Endofit

Media *Corn Meal Malt Agar* (CMMA) terdiri dari *corn meal agar* 17,0 g, *malt extract* 2,0 g dan air demineral 1000 mL. Selanjutnya dilakukan pengaturan pH sampai 6,0 dengan NaOH. Kloramfenikol (50 mg/L) ditambahkan setelah sterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. *Media Potato Dextrose Agar* (PDA) terdiri dari 4,0 g *potato starch*, 20 g *dextrose* dan agar 15,0 g. Setelah itu dimasukkan 39 g PDA dalam 1000 mL air demineral kemudian dihomogenkan. Larutan dipanaskan dengan diaduk sampai mendidih. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit lalu ditambahkan Kloramfenikol (50 mg/L). PDB (*Potato Dextrose Broth*) sebanyak 24 g dimasukkan dalam 1000 ml air suling, kemudian dilakukan proses pelarutan media dengan pemanasan. Terakhir, dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Rahmi, *et al.*, 2012).

Isolasi dan Pemurnian Kapang Endofit

Ranting tumbuhan dibelah dua secara longitudinal, lalu diletakkan di atas cawan petri berisi CMMA yang telah dicampur dengan kloramfenikol 0,05 mg/mL (Theantana, *et al.*, 2007; Azmi, 2012) dan PDA yang telah dicampur dengan kloramfenikol 0,05 mg/mL (Croizer, *et al.*, 2006; Rahmi, *et al.*, 2012). Keduanya diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25°C, kemudian koloni dipindahkan ke PDA dalam cawan petri dan selanjutnya diinkubasi lagi pada suhu 25°C dan dilakukan pengecekan secara berkala untuk pemurnian lebih lanjut. Masing-masing endofit diisolasi melalui beberapa kali ditanam pada agar miring (PDA) dan diinkubasi dalam inkubator suhu 25°C.

Uji Aktivitas Antidiabetes Terhadap Isolat Kapang Endofit Dari Tumbuhan Mahoni

Uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan

metode α -glucosidase (Saijyo, *et al.*, 2008; Azmi, 2012). Sebanyak 1 mg α -glucosidase dilarutkan dalam 1000 μ L buffer fosfat (pH 7). Kemudian 12 μ L larutan enzim diencerkan dalam 30 μ L buffer fosfat sebelum digunakan untuk pengujian. Sebanyak 250 μ L 20 mM-paranitrofenil- α -D glukopiranosida, 475 μ L 100 mM buffer fosfat dan 25 μ L larutan sampel dilarutkan dalam DMSO. Setelah larutan homogen diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, lalu ditambahkan 250 μ L larutan enzim α -glucosidase, inkubasi dilanjutkan selama 25 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 mL 0,2 M Na₂CO₃. Jumlah p-nitrofenol yang dilepaskan diukur pada panjang gelombang, $\lambda = 400$ nm. Selanjutnya, kemampuan inhibisi dihitung berdasarkan Persamaan (1). OD test menunjukkan absorbansi sampel dengan penambahan enzim, OD blanko adalah absorbansi sampel tanpa penambahan enzim, COD test absorbansi kontrol dengan penambahan enzim dan COD blank adalah absorbansi kontrol tanpa penambahan enzim.

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{(\text{OD test} - \text{OD blanko})}{(\text{COD test} - \text{COD blanko})} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Gurav, *et al.*, 2007; Erawati, 2012). Sebanyak 19,75 mg DPPH (BM= 394,32 g/mol) ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. hingga 50 mL, ditempatkan dalam botol gelap. Sebanyak 1 mL larutan DPPH 1 mM dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a. hingga tanda dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mg sampel ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL metanol p.a., larutan ini adalah larutan induk. Sebanyak 50, 100, 250, 500 dan 100 μ L larutan induk dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditera 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi 5, 10, 25, 50, 100 μ g/mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL

DPPH 1 mM ke dalam masing-masing tabung dan ditambahkan metanol p.a. sampai 5 mL kemudian dihomogenkan. Sebanyak 3 mg vitamin C ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. hingga 5 mL dan dipipet sebanyak 50, 100, 150, 200 dan 250 µL lalu dimasukkan ke dalam labu terukur 5 mL dengan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 1 mM kemudian ditambahkan metanol p.a. hingga diperoleh konsentrasi larutan vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 3, 6, 9, 12, 15 µg/mL. Larutan uji diinkubasi dalam penangas air pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 515 nm menggunakan spektrofotometer cahaya tampak. Persentase inhibisi dihitung dengan Persamaan (2):

$$\text{Inhibisi} = (\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}) / (\text{Absorbansi blanko}) \times 100\% \dots(2)$$

Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi antioksidan (µg/mL) yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ diperoleh dari perpotongan garis antara 50% daya hambatan dengan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan $y = a + bx$, di mana $y = 50$ dan nilai x menunjukkan IC₅₀. Ekstrak dikatakan aktif bila nilai IC₅₀ lebih kecil dari 100 µg/mL (Gurav, *et.al.*, 2007; Erawati, 2012).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi dan Taksonomi Sampel Tumbuhan

Sampel diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Penelitian Indonesia dan diperoleh bahwa sampel ranting tumbuhan adalah spesies *Swietenia macrophylla* King dari suku Maleaceae. Isolasi kapang-kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni diperoleh 7 isolat kapang. Kapang A.Sm.2F memiliki rendemen yang lebih tinggi dari kapang lainnya. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Rahmi, dkk. (2012) untuk mengisolasi kapang endofit dari biji tumbuhan mahoni dengan

menggunakan media *Potato Dextrose Broth* diperoleh 6 isolat kapang. Adanya perbedaan jumlah isolat ini sesuai dengan teori bahwa kapang endofit yang dihasilkan dari tumbuhan inang dapat menghasilkan jenis isolat yang berbeda-beda dan bervariasi. Hal ini merupakan mekanisme adaptasi dari endofit terhadap mikro-ekologi dan kondisi fisiologis yang spesifik dari tumbuhan inang, bahkan dari satu jaringan hidup suatu tumbuhan dapat diisolasi lebih dari satu jenis kapang endofit (Noverita, *et.al.*, 2009). Dari berbagai macam eksplan yang ditanam dalam media PDA, kapang endofit hanya tumbuh dari eksplan daun, batang dan akar. Endofit biasanya bertempat pada bagian tanaman yang berada di atas tanah seperti daun, batang, kulit batang, tangkai daun, dan alat reproduktif (Purwanto, 2011).

Isolat kapang yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan menggunakan etil asetat. Isolat kapang dan pengkodean serta berat filtrat maupun biomassa hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1. Isolat kapang endofit yang bernotasi A merujuk kepada isolat yang ditanam pada media CMMA sedangkan notasi B adalah isolat yang ditanam pada media PDA. Notasi Sm merujuk pada nama tumbuhan inang.

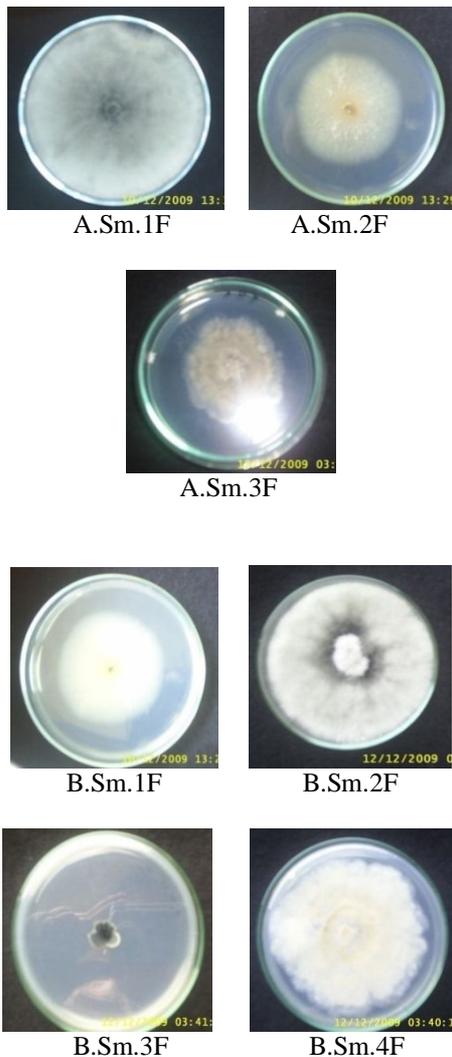
Tabel 1. Isolat kapang endofit dari ranting mahoni

No.	Isolat Kapang	Berat Ekstrak Etil asetat	
		Filtrat (g)	Biomassa (g)
1.	A.Sm.1F	0,0887	0,1007
2.	A.Sm.2F	0,1598	0,1023
3.	A.Sm.3F	0,0886	0,0587
4.	B.Sm.1F	0,0830	0,1052
5.	B.Sm.2F	0,0922	0,0906
6.	B.Sm.3F	0,0584	0,0848
7.	B.Sm.4F	0,0907	0,1869

Gambar Isolat Kapang Endofit Dari Ranting Tumbuhan Mahoni

Isolat-isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni ini dapat dilihat pada Gambar 1 setelah dilakukan pemotretan secara mikroskopis dengan perbesaran 4000 kali. Isolat A.Sm.1F,

A.Sm.2F dan A.Sm.3F adalah isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni yang ditanam pada media CMAA. Isolat B.Sm.1F, B.Sm.2F, B.Sm.3F dan B.Sm.4F adalah isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni yang ditanam pada media PDA.



Gambar 1. Isolat kapang endofit

Aktivitas Antidiabetes Kapang Endofit Dari Ranting Tumbuhan Mahoni

Uji aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glucosidase isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni disajikan pada Tabel 2 dengan menggunakan acarbose sebagai kontrol positif. Penghambatan aktivitas α -glucosidase diuji dengan menggunakan metode Saijyo, *et.al.* (2008).

Uji penghambatan enzim dilakukan berdasarkan pada pemecahan substrat untuk menghasilkan produk berwarna yang diukur absorbansinya selama periode waktu tertentu. Aktivitas inhibisi α -glucosidase untuk ekstrak filtrat dan biomassa untuk isolat A.Sm.1F masing-masing 15,89% dan 80,98%, A.Sm.2F masing-masing 72,59% dan 92,22%, A.Sm.3F masing-masing 81,87% dan 79,37%, B.Sm.1F masing-masing 63,40% dan 96,09%, B.Sm.2F masing-masing 65,60% dan 62,72%, B.Sm.3F masing-masing 93,91% dan 51,48%, dan B.Sm.4F masing-masing 87,48% dan 74,64% sehingga semua isolat ini berpotensi sebagai antidiabetes. Ekstrak biomassa dari isolat B.Sm.1F tumbuhan mahoni memiliki kemampuan penghambatan terhadap enzim α -glucosidase tertinggi dibanding dengan isolat lainnya yaitu sebesar 96,09%, disusul filtrat B.Sm.3F (93,91%) dan biomassa A.Sm.2F (92,22%).

Tabel 2. Aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glucosidase acarbose dan isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni

No.	Isolat Kapang	α -Glucosidase (%)	
		Filtrat	Biomassa
1.	A.Sm.1F	15,89	80,98
2.	A.Sm.2F	72,59	92,22
3.	A.Sm.3F	81,87	79,37
4.	B.Sm.1F	63,40	96,09
5.	B.Sm.2F	65,60	62,72
6.	B.Sm.3F	93,91	51,48
7.	B.Sm.4F	87,48	74,64
8.	Acarbose	98,28	

Ket.: Acarbose 1 mg/ml sebagai kontrol positif

Sebagai pembanding dalam penelitian ini digunakan senyawa inhibitor komersial acarbose 1 mg/ml yang merupakan inhibitor α -glucosidase yang telah dikomersialkan dengan nama dagang glucobay. Acarbose adalah obat oral antidiabetes golongan penghambat α -glucosidase dengan mekanisme kerja mengurangi absorpsi glukosa di usus halus sehingga mempunyai efek untuk menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan. Hasil uji aktivitas inhibisi α -glucosidase semua ekstrak biomassa isolat

kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni ini memiliki nilai inhibisi yang lebih besar dari 50% sehingga berpotensi sebagai penghasil senyawa aktif antidiabetes sedangkan aktivitas inhibisi senyawa acarbose adalah sebesar 98,28%. Daya hambat dari ekstrak biomassa isolat B.Sm.1F (96,09%) dan A.Sm.2F (92,22%) serta ekstrak filtrat B.Sm.3F (93,31%) tergolong tinggi, mengingat yang diujikan adalah hanya ekstrak isolat bukan senyawa murni dan apabila yang diuji adalah senyawa murni, maka peluang daya hambat kemungkinan besar bisa melebihi senyawa acarbose.

Penelitian yang dilakukan Maria, dkk. (2009) untuk melihat potensi aktivitas antidiabetes dari tumbuhan obat Indonesia dengan menggunakan metode uji penghambatan enzim α -glucosidase dan α -amilase diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak tumbuhan ini memiliki aktivitas yang rendah dengan nilai penghambatan enzim α -glucosidase sebesar sebesar 28%. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Rahmi Ramdanis, dkk. (2012) untuk melihat potensi aktivitas antidiabetes kapang endofit dari biji tumbuhan mahoni dengan menggunakan metode uji penghambatan enzim α -glucosidase diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etil asetat 5 isolat kapang memiliki aktivitas yang lebih baik dari senyawa acarbose dengan nilai penghambatan IC_{50} yang terkecil adalah 73,64 mg/mL.

Aktivitas antioksidan isolat-isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode ini paling umum digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan sampel secara *in vitro* karena sederhana, cepat dan menggunakan sampel yang relatif lebih sedikit. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm. Prinsip kerja metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron maupun radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas

daripada DPPH. Jika semua elektron pada DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan akan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm (Gurav, *et.al.*, 2007; Erawati, 2012).

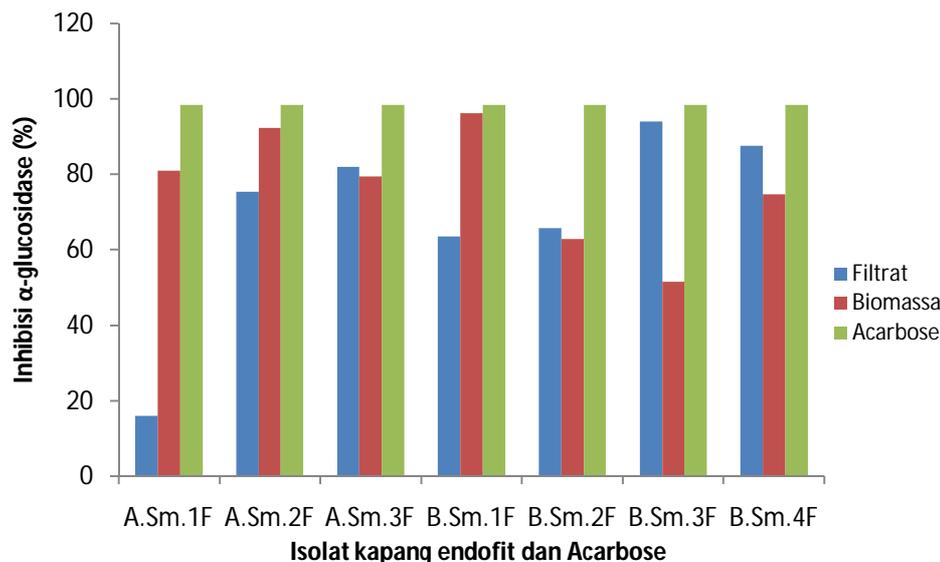
Tabel 3. Aktivitas antioksidan isolat kapang endofit dari ranting mahoni

No.	Isolat Kapang	IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
1.	A.Sm.1F	168,35	Tidak aktif
2.	A.Sm.2F	224,42	Tidak aktif
3.	A.Sm.3F	162,98	Tidak aktif
4.	B.Sm.1F	84,41	Aktif
5.	B.Sm.2F	194,32	Tidak aktif
6.	B.Sm.3F	334,32	Tidak aktif
7.	B.Sm.4F	192,89	Tidak Aktif
8.	Vitamin C	3,24	Aktif

Ket.: Vitamin C sebagai kontrol positif

Aktivitas antioksidan isolat-isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni diuji dengan metode peredaman radikal bebas dengan pereaksi DPPH dan vitamin C sebagai kontrol positif. Nilai IC_{50} vitamin C adalah sebesar 3,24 ppm. Hasil uji antioksidan isolat-isolat tumbuhan ini dan Vitamin C disajikan pada Tabel 3. Nilai IC_{50} menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (simbol x) dengan aktivitas penangkap radikal (simbol y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik (Cholisoh dan Utami, 2008).

Pada penelitian aktivitas antioksidan senyawa xanton hasil isolasi dari tumbuhan garcinia yang dilakukan oleh Minami, *et.al.* (1994), mengelompokkan kekuatan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} . Suatu senyawa dikelompokkan sangat aktif jika memiliki nilai $IC_{50}<10$, aktif jika memiliki nilai $IC_{50} <100$ dan tidak aktif jika memiliki nilai $IC_{50}>100$ ppm (Minami, *et.al.*,1994; Ika, *et.al.*, 2013). Hasil yang tertera pada Tabel 3



Gambar 2. Aktivitas Inhibisi α -glucosidase isolat kapang endofit dan Acarbose

menunjukkan isolat kapang endofit B.Sm.1F dari ranting tumbuhan mahoni mempunyai nilai $IC_{50} < 100$ ppm yaitu 84,41 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut mempunyai aktivitas antioksidan. Jenis isolat kapang yang lain (A.Sm.1F, A.Sm.2F, A.Sm.3F, B.Sm.2F, B.Sm.3F dan B.Sm.4F) dari tumbuhan ini memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar dari 100 ppm, sehingga tidak aktif sebagai antioksidan.

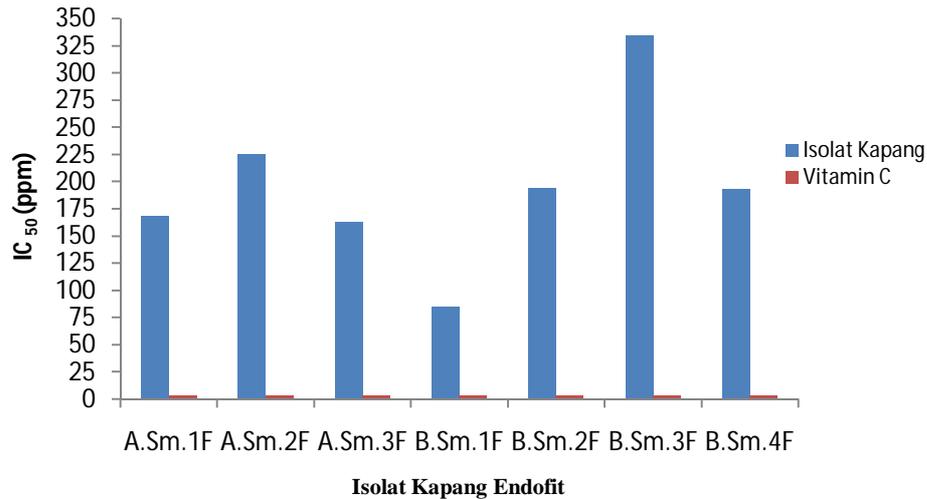
Falah, dkk. (2013) dalam penelitiannya isolasi dan aktivitas antioksidan senyawa kimia dari kulit batang tumbuhan mahoni menemukan senyawa *swietemacrophyllanin*. Aktivitas antioksidan senyawa *swietemacrophyllanin* diuji dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan pelarut DPPH. Senyawa *swietemacrophyllanin* memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan IC_{50} sebesar 56 ppm.

Aktivitas antidiabetes dan antioksidan isolat-isolat kapang endofit dari ranting tumbuhan Mahoni

Diabetes melitus adalah penyakit dengan komponen stress oksidatif, yaitu suatu keadaan yang ditandai dengan adanya ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Stress oksidatif dalam diabetes melitus terjadi melalui tiga mekanisme yaitu glikasi non enzimatis pada protein, jalur poliol sorbitol

(aldosa reduktase) dan otoksidasi glukosa. Hiperglikemia menyebabkan otoksidasi glukosa, glikasi protein dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stress oksidatif (Ueno, *et.al.*, 2002; Dewi, *et.al.*, 2014).

Untuk meredakan kerusakan oksidatif tersebut diperlukan antioksidan. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes mellitus. Penelitian pada hewan percobaan membuktikan bahwa antioksidan dapat menghambat tahap awal retinopati, nefropati dan neuropati pada diabetes (Kowluru, *et.al.*, 2001; Dewi, *et.al.*, 2012). Demikian juga pada penelitian pada manusia, antioksidan dapat menghambat komplikasi mikrovaskular, penurunan insiden penyakit jantung koroner, perbaikan sistem saraf otonom jantung dan perbaikan vasodilatasi (Beckman, *et.al.*, 2001; Dewi, *et.al.*, 2014).



Gambar 3. Aktivitas Antioksidan Isolat Kapang dan Vitamin C

Pada penelitian ini, isolat kapang endofit difermentasi di dalam medium PDA dan CMMA dan diperoleh beberapa kapang endofit yang memiliki aktivitas antidiabetes baik ekstrak filtrat dan bioamassa, seperti yang disajikan dalam Gambar 2. Isolat kapang endofit itu antara lain A.Sm.2F (72,59% dan 92,22%), A.Sm.3F (81,87% dan 79,37%), B.Sm.1F (63,40% dan 96,09%), B.Sm.2F (65,60% dan 62,72%), B.Sm.3F (93,91% dan 51,48%) dan B.Sm.4F (87,48% dan 74,64%). Ekstrak filtrat isolat kapang A.Sm.1F memiliki aktivitas kurang dari 50% sehingga tidak aktif sebagai antidiabetes. Kapang endofit B.Sm.1F adalah satu-satunya kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni yang aktif sebagai antioksidan dengan IC_{50} sebesar 84,41 (< 100). Isolat kapang ini juga memiliki aktivitas antidiabetes yang tinggi sehingga sangat berpotensi sebagai agen antidiabetes dan antioksidan yang dapat menghasilkan senyawa-senyawa antidiabetes dan antioksidan. Sementara hasil IC_{50} isolat kapang endofit lainnya lebih besar dari 100 sehingga tidak aktif sebagai antidiabetes seperti yang disajikan dalam Gambar 3.

4. KESIMPULAN

Isolasi kapang endofit dari ranting tumbuhan mahoni pada media CMMA dan PDA, diperoleh 7 isolat. Kapang endofit B.Sm.1F aktif sebagai antioksidan dengan

IC_{50} sebesar 84,41 dan memiliki aktivitas antidiabetes dengan ekstrak filtrat dan biomassa masing masing sebesar 63,40% dan 96,09% sehingga berpotensi sebagai agen antidiabetes dan antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriana,G., Sandro, A.R., Celso, J.R.F., Nakamura, C.V. & Joao, A.P. (2012). Diversity of Foliar Endophytic Fungi From the Medicinal Sapindus saponaria L, and Their Localization by Scanning Electron Microscopy. *Biological Research J*, 45(2), 139-148.
- Astiyandani, P.G., Permana, A.W.G., Vedayanti, P.D., Larayanthi, C.I.D., Windasari, M.P. & Wahyuniari, I.A.I. (2010). Uji Klinis in vivo pengaruh Konsumsi Daluman (*cycllea barbata*) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes mellitus Tipe-2. *Jurnal IPTEKMA Universitas Udayana*, 2(1).
- Azmi Azhary. (2012). *Aktivitas Sitotoksik dan Apoptosis Sel Khamir Ekstrak Kloroform Kapang Endofit Evodia Suaveolens*. Skripsi Sarjana Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Baynes, J.W., & Thrope, S.R. (1999). Role of Oxidative Stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes J.*, 48(1), 1-9.
- Beckman, J.A., Goldfine, A.B., Gordon, M.B. & Creager, M.A. (2001). Ascorbate restores endothelium-dependent

- vasodilatation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation J.*, 103(12), 1618-23.
- Cholisoh, Z. & Utami, W. (2008). Aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak etanol 70% biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacol J.*, 9(1), 33–40.
- Crozier, J., Thomas, S. E., Aime, M. C., Evans, H. C., & Holmes, K. A. (2006). Molecular characterization of fungal endophytic morphospecies isolated from stems and pods of *Theobroma cacao*. *Plant Pathology*, 55(6), 783-791.
- Dewi, W.I.A., Aman, I.G.M., & Bagiada, N.A. (2014). Pemberian ekstrak Biji Kako (*Theobroma cacao* L.) menurunkan kadar Malondialdehid dan meningkatkan kadar NOx darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi stress psikososial. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, (2).
- Dujeda, S.S., Rupa, G., Ranjana, S., Pooja, S.M., & Erika, K. (2012). Interaction of Endophytic Microbes with Legumes. *Journal of Basic Microbiology*, 52(3), 248-260.
- Erawaty. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun *Garcinia daedalamera Pierre* dengan metode DPPH (1,1 difenil pikrihidrazil) dan Identifikasi golongan senyawa dari fraksi paling aktif. Skripsi F.MIPA Universitas Indonesia.
- Falah, S., Suzuki, T., & Katayama, T. (2013). Chemical constituents from *Swietenia macrophylla* bark and their antioxidant activity. *Pak. J Biol Sci*, 11(6), 2007-2012.
- Giorgio, P. (2000). Flavonoid and Antioxidant. *Natural Product J*, 63(7), 1035-1043.
- Gholamhoseinian, A., Hosesin, F., Fariba, S., & Mansour, M. (2008). The inhibitor effect of some Iranian plants extract on the alpha glucosidase. *Iran. J. of Basic Med. Scie.*, 11(1), 1-9.
- Gurav, S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragka, N., & Patil, A. (2007). Free Radical Scavenging Activity of *Polygala Chinensis* Linn. *Pharmacology Line*, 2, 245-253.
- Halliwel, B. (2007). Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health. *Cardiovascular Research J.*, 73(2), 341-347.
- Ika, J.P., Fauziyah & Elfitra. (2013). Aktivitas antioksidan daun dan biji buah Nipah (*Nypa fruticans*) asal pesisir Banyuasin Sumatera Selatan dengan metode DPPH. *Maspari Journal*, 5 (1), 16-21.
- Kowluru, R.A., Tang, J., & Kern, T.S. (2001). Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Diabetes*, 50(8),1938-1942.
- Maria, D.P.T.G.P., Megy, R.B., & Jun, K. (2009). Indonesian Medicinal Plant and Their Antidiabetic Potencies. *Functional foods for chronic diseases*, 4, 110-120.
- Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., & Hansen, U.P. (2007). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extract of some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurement. *Sensors J.*, 7(10), 2080-2095.
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshizawa, T., Suigura, M., Nakagawa, K., & Tago, H. (1994). Antioxidant xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry*, 36(2), 501-506.
- Monica, L.C.R., & Maria, E.F.A. (2012). Mechanism and Factors Associated With Gastrointestinal Symptoms in Patients with Diabetes mellitus. *Journal de Pediatria*, 8(1).
- Nickavar, B., & Nasibeh, Y. (2009). Inhibitor effects of six *Allium* species on α -glucosidase enzyme activity. *Iranian J. of Pharmaceutic. Res.*, 8(1), 53-57.
- Noverita, Dinah, F., & Ernawati, S. (2009). Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 171-176.
- Nurina, D.P. (2012). Hubungan Dukungan Pasangan dan Health Locus of Control dengan Kepatuhan dalam Menjalani Proses Pengobatan pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe-2. *Calyptra*:

- Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 1(1).
- Oberley, L.W. (1998). Free Radicals and Diabetes. *Free Radic. Biol Med.*, 5(2), 113-124.
- Onifade, A.K. (2007). Research trends: Bioactive metabolites of fungal origin. *Res. J. of Biol. Sci.*, 2(1), 81-84.
- Pokornoy, J., Yamisljeva, N., & Gordon, M. (2001). *Antioxidant in food practical applications*. England Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press LLC.
- Purwanto. (2011). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penghambat Polimerisasi Hem dari Fungi Endofit Tanaman Artemisia annua L.* Tesis Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Rahmi, R., Atiek, S., & Abdul, M. (2012). Isolation and α -Glucosidase Inhibitory activity of endophytic fungi from mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seeds. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2(3), 447-452.
- Rajangjulu, S.K., Hyung, J.K., Byung, K.H. (2011). Taxol Producing Fungal Endophyte, *Pestalotiopsis* species, Isolated from *Taxus cuspidata*. *J. of Bioscience and Bioengineering*, 111 (6), 731.
- Rizna, T.D., Sanro, T., Ahmad, D. (2014). Effect on α -glucosidase inhibition and antioxidant activities of butyrolactone derivatives from *Aspergillus terreus* MC751. *Medicinal Chemistry Research*, 23(1), 454-460.
- Rout, S.K., Chowdary, D.M., & Lapomudra, D. (2009). Plants as source of novel antidiabetic drug : Present scenario an future perspective. *Curr. Trends in Biotech. and Pharm.*, 3 (1), 37-55.
- Saijyo, J., Suzuki, Y., Okuno, Y., & Yamaki, H. (2008). α -glucosidase Inhibitor from *Bergenia Ligulata*. *J. Oleo Sci.*, 57(8), 431-435.
- Sashikumar, J.M., Maheshu, V., & Jayadev, R. (2009). In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Berberia Tinctona* Lesch Root and Root Bark. *India Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 3(2), 53-58.
- Sies, H. (1993). Strategies of Antioxidant Defense. *European Journal of Biochemistry*, 21(5), 213-219.
- Shinta, S., Toripah, Jemy, A., & Frenly, W. (2014). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam). *Pharmakon J.* 3(4).
- Simanjuntak, L.P. (2011). *Tumbuhan dan Mikroba Endofit di Indonesia: Potensi Biodiversitas untuk Bahan Obat*. Orasi Ilmiah Profesor Riset LIPI.
- Souvik, K., Christian, H., & Michael, S. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & biology*, 19(7), 792-798.
- Theantana, T., Hyde, K.O., & Lumyong, A. (2007). Asparaginase production by endophytic fungi isolated from some thai medical plants. *KMITL, Scie.Tech. J.*, 7(1), 13-18.
- Tiwary, A.K., & Rao, J.M. (2002). Diabetes Melitus and Multiple Therapeutic Approaches of Phytochemicals: Present Status and Future Prospect. *Current Science*, 83(1), 30-38.
- Ueno, Y., Kizaki, M., Nakagiri, R., Kamiya, T., Sumi, H., & Osawa, T. (2002). Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J. Nutrition*, 132(5), 897-900.
- World Health Organization, WHO. (2010). *Diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia*. Report of A WHO/IDF Consultation.
- Xue, P.X., Qin, W.J., Wang, Y.J., Wang, Y.S., & Zheng Y.G. (2013). Enhanced Production of Acarbose and Concurrently Reduced Formation of Impurity C by Addition of Validamine in Fermentation of *Actinoplanes utahensis*. *Biomed. Res. Int. J.*, 2(12).