SKRININGAKTIVITASINHIBITORENZIMTIROSINASE DARIISOLAT JAMUR ENDOFIT BUAH BENGKUANG *(Pachyrhizuserosus)*SEBAGAIKANDIDAT *WHITENINGAGENT*

SKRIPSISARJANAFARMASI

Disusun Oleh :

NATHANIARUELLA

NIM : 22160020

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTASFARMASISAINSDANTEKNOLOGI

UNIVERSITASDHARMAANDALAS

PADANG

2026

PERNYATAAN ORISINIL DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nathania Ruella

No. BP : 22160020

Judul Skripsi : Skrining Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Dari Ekstrak Jamur Endofit Buah Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) Sebagai Kandidat *Whitening Agent.*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. **Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.**
2. **Saya menyatakan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Sains dan Teknologi Universitas Dharma Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.**

Padang, 20 Agustus 2026

Menyatakan,



Nathania Ruella
22160020

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

NAMA : Nathania Ruella

NO BP : 22160020

JUDUL : Skrining Aktivitas Enzim Tirosinase dari Ekstrak Jamur Endofit Buah Bengkuang *(Pachyrhizus erosus) Sebagai Kandidat Whitening Agent*

Padang, 29 September 2026

Disetujui Oleh :

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Apt. Rustini, M.Si	**apt. Nofrizal, M.Farm**
NIDN: 003066508	NIDN: 1004119002

Mengetahui

Ka. Prodi	Dekan
Dr. apt. Sefrianita Kamal, M.Farm	**Dr. Apt. Rustini, M.Si**
NIDN: 1007097903	NIDN: 003066508

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Ujian Seminar Hasil

Program Studi S1 Farmasi

Fakultas Farmasi, Sains dan Teknologi

Universitas Dharma Andalas

Pada Tanggal : 13 Agustus 2026

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Lusia Eka Putri, M.Si	Pimpinan sidang	
2	apt. Wira Wahyudi Nandayasa, M.Farm	Anggota	
3	apt. Serdiani, S.Si, M.Farm, FISQua	Anggota	
4	Dr. apt. Rustini, M.Si	Pembimbing 1	
5	apt. Nofrizal, M.Farm	Pembimbing 2	

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

"You don't have to understand life. You just have to live it"
(Matt Haig, *The Midnight Library*)

"People who has a why to live can bear almost any how"

(Viktor E. Frankl, *Man's Search for Meaning*)

"Kebahagiaan datang ketika kita mampu membedakan apa yang bisa dan tidak bisa kita kendalikan."
(*Filosofi Teras*, Henry Manampiring)

"If all you do is worry then there's really no end to it. You worry about every little thing. Don't focus too much on your worries, let's be happy."
(Jimin Of BTS)

PERSEMBAHAN

Teruntuk diri-ku yang sudah berjuang segenap kemampuannya sampai di titik akhir ini, Welcome to the final show Nathania, you're incredible. Kepada orang-orang terkasih yang aku cintai dan sayangi segenap jiwa, how can I describe how lucky I am to have them in my life, mama, papa, abang ucaan terima kasih bahkan tidak kunjung bisa menggantikan sosok yang senangtiasa hadir pada perjuangan sengit ini.

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Saya mahasiswa/dosen/tenaga kependidikan* Universitas Dharma Andalas yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama lengkap	: Nathania Ruella
No. BP/NIM/NIDN	: 22160020
Program Studi	: S1 Farmasi
Fakultas	: Farmasi Sains dan Teknologi
Jenis Tugas Akhir	: TA Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Dharma Andalas hak atas publikasi Tugas Akhir saya yang berjudul:

Skrining Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dari Ekstrak Jamur Endofit Buah Bengkuang *(Pachyrhizus erosus)* Sebagai Kandidat Whitening Agent

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Universitas Dharma Andalas juga berhak untuk menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola, merawat, dan mempublikasikan karya saya tersebut di atas selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Padang
Pada tanggal 29 September 2026
Yang menyatakan,

(Nathania Ruella)

* pilih sesuai kondisi
** termasuk laporan penelitian, laporan pengabdian masyarakat, laporan magang, dll

KATAPENGANTAR

AssalamualaikumWarahmatullahiWabarakatuh.SegalapujibagiAllahSWTyang telahmelimpahkanrahmatdankarunia-Nyayangbegitubesar.Kemudian,shalawat besertasalamtak lupakitaucapkankepada junjungankitaNabi Muhammad SAW sehinggapenulisdapat menyelesaikanHasilPenelitianinidenganjudul **"Skrining Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dari Isolat Jamur Endofit Buah Bengkuang *(Pachyrhizus erosus)* Sebagai Kandidat *Whitening Agent*"**

Hasil Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Universitas Dharma Andalas Padang. Pada kesempatan ini, izinkan penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikandukungansehinggaskripsiinidapatdiselesaikan.Ucapanterimakasih ini penulis tujukan kepada:

1. IbuDr.apt.Rustini.,M.SiselakuDosenPembimbingIdanBapakapt. Nofrizal., M. Farm selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan segenap waktu berharganya, senantiasa membimbing, membangun rasa percayadiriagartugasakhirinidapatterselesaikandenganbaikdanbanyak mengarahkan selama penyelesaian hasil penelitian ini.
2. Ibu Dr. apt. Rustini., M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi, Sains, dan Teknologi Universitas Dharma Andalas Padang.

3. Ibu Dr. apt. Sefrianita Kamal., M. Farm selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Dharma Andalas Padang, yang telah menyediakan fasilitas dan izin dalam menyelesaikan hasil penelitian ini.
4. Ibu apt. Helmice Afriyeni, M., Farmselaku dosen pembimbing akademik, yangtelahmembantudanmengarahkanpenulisselamamasapendidikandi Program Studi Farmasi Universitas Dharma Andalas Padang.
5. Bapak dan Ibu dosen yang telah memberikan pendidikan dan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa di Program Studi Farmasi Universitas Dharma Andalas Padang.
6. Terimakasih yangsebesar-besarnya Kepadapapa BudiHartanto danmama Mainaryangtelahmemberikandoadansemangatselamapenyusunanhasil penelitian ini. Terimakasih sudah sabar mendukung setiap langkah, memberikan kasih sayang, dan percaya bahwa penulis bisa sampai di titik ini. Semua doa, pelukan, dan nasihat dari mama dan papa menjadi alasan terbesar penulis bisa menyelesaikan hasil penelitian ini dengan baik.
7. Terimakasih kepada seseorang yang dukungannya menjadi fondasi emosionaldalampenyelesaian hasilpenelitian ini, terutama kepada Abang Ikhsan Tri Syahputra, Cici Yuri Agnes Wenni, dan Kakak Vincensia Orin Gelda,sertaadikpenulisCakrawalaKayana,ArjunaBramantha,senantiasa hadir dalam rekuhan momen paling berat maupun paling indah dalam perjalan ini.
8. Terimkasih kepada para sahabat-sahabat penulis, Sherly Fillia, Sovia MaulanaAnugrah, PutriHanifah, BungaPermataSari, FajarAnugrah, Nur

Citra Wangsa Zakhira Amanda, Nur Aisyah Fitriyana, Laras Wening Galih, Giza Nanda Tivanka, Fadhil Hakim Aflah, dan Muhammad Zidan Firdaus yang telah memberikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan hasil penelitian ini, selalu dengan adanya candaan dan motivasi sesama dalam menguatkan serta semangat yang tidak akan pernah pudar, sampai kapanpun.

9. Teman-teman mahasiswa, khususnya mahasiswa Program Studi Farmasi Universitas Dharma Andalas Padang Angkatan 2022, yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan hasil penelitian ini.

Padang, 29 September 2026

Nathania Ruella

iii

SKRININGAKTIVITASINHIBITORENZIMTIROSINASEDARI ISOLATJAMURENDOFITBUAHBENGKUANG(*Pachyrhizuserosus*) SEBAGAI KANDIDAT WHITENING AGENT

ABSTRAK

Umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) diketahui mengandung senyawa isoflavonoid yang berperan dalam menghambat biosintesis melanin melalui penghambatan aktivitas enzim tirosinase. Jamur endofit yang hidup di dalam jaringan umbi bengkuang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas biologis serupa sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber senyawa pencerah kulit alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibitor enzim tirosinase dari ekstrak etil asetat isolat jamur endofit umbi bengkuang(Pachyrhizuserosus)sebagaikandidatbahanaktifpencerahkulitalami. Jamurendofitdiisolasidariumbibengkuangsehat,kemudiandilakukanpemurnian, kultivasi, dan ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Aktivitas penghambatan enzimtirosinasediujisecara invitro menggunakansubstrat L-DOPAdenganasam kojat sebagaikontrolpositif. Aktivitas inhibitorditentukanberdasarkanpenurunan pembentukan dopakrom yang diukur menggunakan microplate reader. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat isolat PE3, PE2, dan PE5 memilikiaktivitas inhibitortirosinase yang lebihbaikdibandingkanisolat lainnya. Ekstrak PE3 menunjukkan aktivitas tertinggi dengan nilai potensiasi sebesar 21,01%,diikutiPE2sebesar15,00%danPE5sebesar13,58%relatifterhadapasam kojat, sedangkan ekstrak PE1 dan PE4 menunjukkan aktivitas yang lebih rendah dengan nilaipotensiasi masing-masing sebesar0,362% dan0,222%. Berdasarkan hasiltersebut,dapatdisimpulkanbahwaekstraketilasetatisolatjamurendofitumbi bengkuangmemilikiaktivitassebagaiinhibitorenzimtirosinase,denganisolatPE3 menunjukkanaktivitasterbaik,sehingga berpotensidikembangkansebagaisumber senyawa inhibitor tirosinase alami yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan aktif dalam formulasi kosmetik pencerah kulit.

Kata kunci: Jamur Endofit, Bengkuang, Inhibitor tirosinase, *Whitening Agent, Pachyrhizus erosus*

SCREENING OF TYROSINASE ENZYME INHIBITORY ACTIVITY FROMENDOPHYTICFUNGALISOLATESOFJICAMATUBERFRUIT (*Pachyrhizuserosus*)ASAWHITENINGAGENT

ABSTRAK

Pachyrhizus erosus (yam bean) tubers are known to contain isoflavonoid compounds that inhibit melanin biosynthesis through the inhibition of tyrosinase enzymeactivity.Endophyticfungiinhabitingyambeantissuesarepotentialsources ofsecondarymetaboliteswithsimilarbiologicalactivitiesandmayserveasnatural skin-whitening agents. This study aimed to evaluate the tyrosinase inhibitory activity of ethyl acetate extracts obtained from endophytic fungal isolates of Pachyrhizus erosus tubers as potential active ingredients for skin-whitening formulations. Endophytic fungi were isolated from healthy yam bean tubers, followed by purification, cultivation, and extraction using ethyl acetate as the extraction solvent. Tyrosinase inhibitory activity was evaluated in vitro using L-DOPA as the substrate, with kojic acid serving as the positive control. The inhibitoryactivitywasdeterminedbasedonthereductionofdopachromeformation measured using a microplate reader. The results showed that the ethyl acetate extractsofisolatesPE3,PE2,andPE5exhibitedbettertyrosinaseinhibitoryactivity than the other isolates. Isolate PE3 demonstrated the highest potentiation value of 21.01%, followed by PE2 (15.00%) and PE5 (13.58%) relative to kojic acid, whereas isolates PE1 and PE4 exhibited considerably lower potentiation values of 0.362% and 0.222%, respectively. In conclusion, the ethyl acetate extracts of endophytic fungi isolated from Pachyrhizus erosus tubers possess tyrosinase inhibitoryactivity,withisolatePE3exhibitingthegreatestpotential.Thesefindings suggestthatendophyticfungifromyambeantubersmayserveaspromisingnatural sources of tyrosinase inhibitors for the development of skin-whitening cosmetic formulations.

Keywords: Endophytic Fungi, Jicama, Tyrosinase Inhibitor, Whitening agent, *Pachyrhizus erosus*

DAFTARISI

Hal

KATAPENGANTAR ii

DAFTARISI iv

DAFTARGAMBAR vi

DAFTARTABEL vii

DAFTARLAMPIRAN ix

BAB 1PENDAHULUAN 1

LatarBelakang 1

RumusanMasalah 4

TujuanPenelitian 4

ManfaatPenelitian 4

BABIITINJAUAN PUSTAKA 10

Bengkuang*(Pachyrhizuserosus)* 10

Klasifikasi 10

KandunganKimiadanBioaktivitasSenyawa Bengkuang 15

JamurEndofit 18

DefinisiJamurEndofit 14

InteraksiJamurEndofitdenganInangnya 21

KlasifikasidanInteraksiUmumJamurEndofit 22

IdentifikasiJamurEndofit 23

InteraksiTanamandenganJamurEndofit 30

InteraksiAntarJamurEndofit 32

InhibitorEnzimTirosinase 33

StrukturEnzimTirosinase 34

MekanismeKerjaReaksiKatalitik 35

MekanismeKatalisisTirosinasehinggaPembentukanMelanin 39

MekanismeInhibitorTirosinase 41

MetodaUjiAktivitasInhibitorTirosinaseSecaraInVitro 44

KelebihandanKekuranganMetode UjiInVitro 46

BABIIIMETODE PENELITIAN 47

WaktudanTempatPelaksanaanPenelitian 47

MetodePenelitian 47

Alat 47

Bahan 47

IdentifikasiSampel 48

PengumpulanSampel 48

SterilisasiAlat 51

SterilisasiPermukaanSampel 51

IsolasiJamurEndofitDariUmbiBengkuang 51

3.2.8PemurnianJamurEndofit 52

KultivasiJamurEndofit 53

EkstraksiIsolatJamurEndofit 54

UjiAktivitasEnzimTirosinaseSecara Invitro 54

AnalisisData 55

BABIVHASILDANPEMBAHASAN.....57

HasilPenelitian 57

HasilIdentifikasiSampelTumbuhan 57

HasilIsolatJamurEndofit 57

HasilAnalisisAktivitasInhibitorEnzimTirosinaseSampel

Uji.....64
Pembahasan 65
BABVKESIMPULANDANSARAN 77
Kesimpulan 77
Saran.....78
DAFTARPUSTAKA 79

DAFTARGAMBAR

Hal

Gambar2.1 TanamanBengkuang 10

Gambar2.2 FitokimiaBengkuang 12

Gambar2.3 StukturKimia dalamEkstrakEtilAsetat 16

Gambar2.4 KarakteristikMakroskopikJamurEndofitMurni.....25

Gambar2.5 KarakteristikMikroskopisJamur Endofit 27

Gambar2.6 KlasifikasiKeberadaanJamurEndofit diSelTanaman.....16

Gambar2.7 TingkatOksidasiEnzimTirosinase 38

DAFTARTABEL

Hal

Tabel2.1 KandunganTumbuhanBengkuang danAktivitasnya 13

Tabel2.2 TeknikIsolasiJamur Endofit 19

Tabel4.1 KarakteristikMakroskopisdanMikroskopis 58

Tabel4.2 HasilAnalisisAktivitasInhibitor EnzimTyrosinaseSampelUji.....64

DAFTARLAMPIRAN

Hal

Lampiran1. SkemaMetodologiPenelitian 80

Lampiran2. DataIdentifikasiSampel.....84

Lampiran3. PerhitungandanCOATirosinase.....85

Lampiran 4. HasilPengukuranAdsorbansiSampelUji.....86

BAB I

PENDAHULUAN

LatarBelakang

Pemutih sebagai salah satu produk yang paling diminati di Indonesia. Diperkirakan sekitar 15% populasi dunia berinvestasi dalam agen pemutih kulit dengan Asia sebagai pasar yang dominan. Hal ini disebabkan dengan adanya stigma standar kecantikan yang menganggap kecantikan sebagai suatu kondisi wanita yang memilikikulit cerahtelahberkembang menjadimasalah yang serius. Stigma ini muncul sebagain akibat dari konstruksi media massa dan penyebaran budaya asing secara cepat di Indonesia, yang mengakibatkanmunculnya obsesi yang tidak sehat bagi wanita di belahan dunia dan eksklusif terjadi di Indonesia. Kondisi ini telah dieksploitasi oleh banyak industri kecantikan dan kesehatan untuk menciptakan produk pemutih illegal. Beberapa produk mengklaim dapat mencerahkan kulit meskipun tidak memiliki izin BPOM yang jelas (Zhao *et al*., 2023 ; Theresia, 2024).

Whitening Agent ada baik dalam bentuk alami maupun sintetik. Bahan pemutih dalam bentuk sintetik seperti hydroquinone, alpha-arbutin, kojic acid, tranexamic acid topikal, azelaid acid, retinoid topikal dan asam salisilat. Sedangkan produk dalam bentuk alami seperti vitamin c, niacinamide (vitamin B1),arbutindanlainnya.Produkpemutihillegalyangsaatiniberedardi Indonesia sepertiMerkuri43,6%,Asam Refinoat 21,8% dan Hidrokuinon 12,7%

digunakan secara illegal dalam produk kosmetik sebagai bahan pemutih atau pencerahkulitkarenamemilikiaktivitasuntukmenghambatpembentukanmelanin padakulit.Meskipunbeberapa bahanpemutihillegaltersebut dapat mencerahkan dan memperhalus kulit dengan cepat, seperti hidrokuinon penggunaannya sudah dilarangkarenadapatmenyebabkankanker,selainitukonsentrasiasamkojatyang ditambahkankedalamkosmetikharuskurangdari1%,denganpenggunaanjangka panjangdapatmembuatkulitjauhlebihsensitifdanmudahrapuh.penggunaannya dapatmemberikandampaknegatifpadakesehatan, karenazattersebut cenderung menumpuk di dalam tubuh manusia, terutama di organ-organ vital, seperti hati, ginjal dan otak (Risa dan Kharisma, 2025 ; Sande, 2020).

Umbi bengkuang sebagai bahan aktif dari produk *whitening agent* mengandung bahanalami sepertiasamkojat danallantoinsebagai bahanpemutih alamitelahbanyakdilakukan,salahsatutumbuhanyangsudahdigunakansebagai bahan kosmetik *whitening agent* seperti pati bengkuang yang diketahui mengandung senyawa aktif pada umbi bengkuang memperkuat bukti mengenai adanya tiga isoflavonoid, yaitu daidzein, daidzein-7-O-glukopiranoza, dan 5-hidroksi-daidzein-7-O-glukopiranoza, bersama dengan pterokarpan baru (8,9-furanyl-pterocarpan-3-ol) yang memiliki aktivitas antioksidan vitamin C, flavonoid, dan saponin yang merupakan tabir surya alami untuk mencegah kerusakan kulit oleh radikal bebas dan juga sudah diujikan aktivitas inhibitor tirosinasenya. Dilakukan penghambatan aktivitas terhadap enzim tirosinase sehingga memberikan efek kulit cerah dan lebih putih (Janatun, *et al*., 2022).

Umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) telah dilaporkan mengandung senyawabioaktifyangberpotensisebagaiwhiteningagent,terutamadarigolongan isoflavonoid. Pada bagian umbi, aktivitas pencerah kulit dikaitkan dengan keberadaandaidzeindangenistein, yang diketahui memilikiaktivitas antioksidan dan kemampuan menghambat enzim tirosinase. Di antara senyawa tersebut, genisteindilaporkan memilikikadar paling tinggi pada umbibengkuang, dengan kandungan mencapai sekitar 1655 μg/g pada ekstrak umbi, sehingga dianggap sebagai kontributor utama terhadap efek whitening. Selain itu, daidzein juga ditemukan dalam jumlah signifikan, yaitu sekitar 329,93 μg/g, yang turut mendukung aktivitas pencerahan kulit. Keberadaan senyawa-senyawa ini menjelaskanpotensiumbibengkuanguntukdikembangkansebagaisumberbahan aktif alami dalam sediaan kosmetik pencerah kulit (Laovachirasuwan dan Phadungkit, 2023).

Umbi bengkuang dikenal memiliki kemampuan mencerahkan kulit dan telah lama dimanfaatkan dalam produk perawatan kulit tradisional. Analisis fitokimia menunjukkan bahwa umbi bengkuang mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk kelompok fenolik dan flavonoid seperti daidzein dan turunannya. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang berperan dalam menjaga kesehatan kulit, membantu menghambat pembentukan melanin, mengurangi iritasi, serta mendukung proses regenerasi dan perlindungan kulit. Kombinasi aktivitas ini memberikan dasar ilmiah bagi penggunaan umbi bengkuang sebagai bahan aktif pencerah kulit. Namunhanyaadahanyasedikitpenelitianyangmenggunakanbengkuang

sebagai pemutih kulit alami dengan menggunakan ekstrak umbi bengkuang (Pornpurn dan Methin, 2023).

Selainpada pemanfaatantumbuh-tumbuhansebagaisumber senyawa alami, trend penelitian saat ini juga banyak diarahkan kepada mikroba-mikroba yang bersimbiosis dengan tumbuhan tersebut, yang dikenal dengan mikroba endofit. Mikroba endofit sendiri diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang mirip ataupun bahkan lebih potensial dibandingkan tumbuhan inangnya. Selain itu, mikroba endofit juga memiliki kelebihan dengan mampu memperbanyak tanpa perlu harus memanen dari tumbuhan nya langsung akan tetapi dengan hasil yang lebih baik. Kombinasi spesifik dengan pengujian jamur endofit daribengkuang dan mengujikannya terhadap enzimtirosinasetidak jelas ada di dalam literatur (Ramos, *et al.*, 2019).

Padapenelitianinidilakukanisolasijamurendofitdariumbibengkuangyang dikultivasi untuk mendapatkan ekstrak metabolit sekunder yang kemudian diujikan terhadap enzim tirosinase.

Rumusan Masalah

1. Bagaimanakarakteristikmakroskopisdariisolatjamurendofityang diperoleh dari umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*)?
2. Bagaimanakarakteristikmikroskopisdariisolatjamurendofityang diperoleh dari umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*)?

3. Bagaimana aktivitas penghambatanenzimtirosinase dariekstrak etilasetat isolat jamur endofit yang diisolasi dari umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*)?

Tujuan

1. Mengetahui karakteristik makroskopis jamur endofit yang diisolasi dari umbi tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*).
2. Mengetahui karakteristik mikroskopis jamur endofit yang diisolasi dari umbi tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*).
3. Mengetahui aktivitas inhibitor enzim tirosinase dari ekstrak etilasetat dari isolat jamur endofityang diisolasi dari umbi tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*).

Manfaat

1. Memperolehdatamengenaikarakteristikisolatjamurendofityangterdapat pada umbi tanaman bengkuang (*Pachyrhizus erosus*).
2. Memperolehdatamengenaiaktivitasinhibitorenzimtyrosinasedariekstrak etilasetat isolat jamurendofit yangdiisolasidariumbitanamanbengkuang (*Pachyrhizus erosus*).
3. Mengidentifikasi kemampuan jamur endofit bengkuang dalam menghasilkan senyawa penghambat melanogenesis.
4. Menyediakanlandasanilmiahuntukimplementasiilmupengetahuandalam merancang dan mengembangkan bahan aktif pencerah kulit berbasis

senyawaalami,sehinggadapatdiintegrasikankedalamformulasikosmetik yangaman,efektif,danmendukungoptimalisasipemanfaatansumberdaya hayati lokal.

BAB II

TINJAUANPUSTAKA

Bengkuang*(Pachyrhizuserosus).*

Klasifikasi

Klasifikasitumbuhanbengkuangmenurut POWOadalahsebagaiberikut :

Kingdom : Plantae

Divisi :Streptophyta

Subdivisi :Equisetopsida

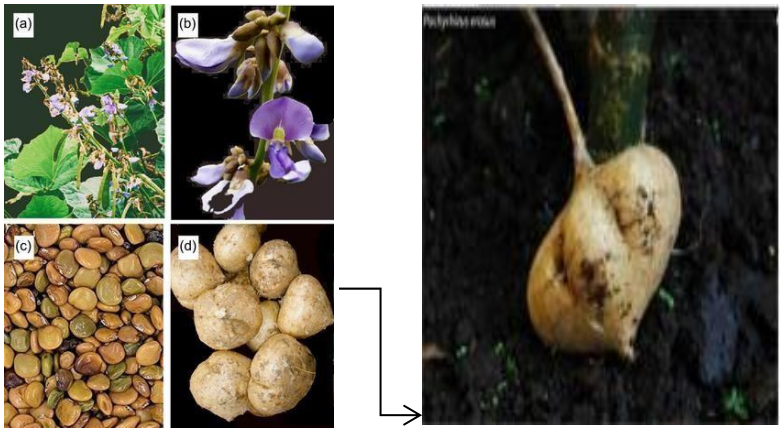
Kelas :Magnoliidae

Ordo :Fabales

Famili :Fabaceae

Genus :Pachyrhizus

Spesies :PachyrhizuserosusL



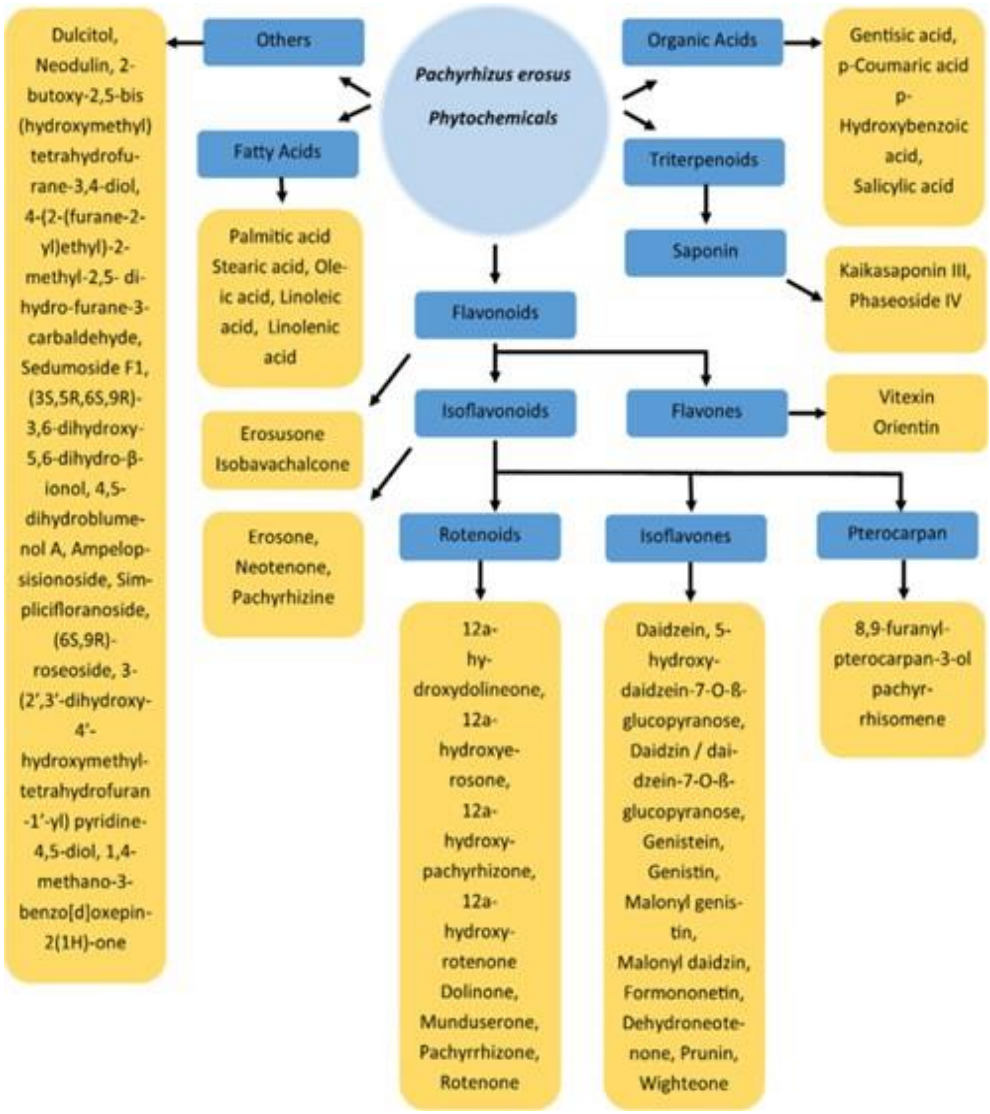
Gambar2.1 BagianUmbiTanamanBengkuang Sumber : POWO (2014)

Tumbuhan bengkuang (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) merupakan tumbuhan yang terdapat pada Famili *Fabaceae.* Tumbuhan ini memiliki umbi yang berbentuk bulat, memiliki kulit yang tipis berwarna kuning dan buah dalamnya berwarnaputih.Akarbengkuangberserabuttunggaldanberumbimencapai10-20 cm, dimana akar sebagai penyimpan cadangan makanan untuk tumbuhan Batang. Bengkuang umumnya sangat pendek, bentuk menjalar dengan panjang sekitar 1-2 m, biasanya mengarah ke bawah warna kehijauan; Daun bengkuang menyiripdengananakan3daunberbentukbulatmelebar(Miksusantietal.,2020; POWO, 2014).

Tumbuhan bengkuang ini masih merupakan tanaman yang kurang dimanfaatkan, tetapi karena kandungan nutrisinya yang tinggi, sifat fiksasi nitrogen untuk pertanian berkelanjutan, berbagai sifat farmakologisnya, dan keberhasilan pengenalan bengkuang di berbagai 11omoge di seluruh dunia, produksi bengkuang ini diperkirakan akan meningkat dalam waktu dekat. Tanaman ini dapat menghasilkan umbi penyimpanan yang besar dibandingkan dengan tanaman umbi lainnya yang sebanding, seperti singkong (Manihot esculenta), serta memiliki kandungan protein beberapa kali lipat lebih banyak (Montagnac *et al*., 2022).

Bengkuang (*Pachyrhizus erosus L*.) memiliki umbi yang dapat dikonsumsi secara langsung. Umbibengkuang berbentukmembulat sepertigasingdengankulit umbi yang tipis, berwarna kuning pucat dan bagian dalamnya berwarna putih dengancairanrasa manis(Sorensen, 1996). Tanamanbengkuangtermasukdalam sukupolongpolongan(Fabaceae),subfamilyPapilionoidea.Ditempat

asalnya,tumbuhaninidikenalsebagaijicamaataujicamadanmemilikibanyak kandungan kimia didalamnya (Park, Lee and Han, 2016).



Gambar2.2 FitokimiayangdilaporkandariBengkuang
Sumber : Varun *et al* (2022)

Sejumlahpenelitiantelah berhasil mengisolasiserta mengidentifikasi berbagaisenyawafitokimiadaribiji,umbi,dandaun*P.erosus*.Umumnya, analisis fitokonstituendilakukankarena adanya dugaanpotensiaktivitas biologis

tanaman tersebut. Oleh sebab itu, sifat bioaktif dari senyawa-senyawa yang berhasil dipisahkan dan ditentukan strukturnya juga turut dievaluasi. Beberapa ekstrak yang ditemukan terbukti berkontribusi terhadap aktivitas biologis *P. erosus*, seperti efek antikanker, antijamur, dan antivirus, sebagaimana diuraikan lebih lanjut pada bagian berikutnya. Mayoritas senyawa yang berhasil diidentifikasi tergolong dalam kelompok flavonoid, meskipun jenis senyawa lain—seperti triterpen, berbagai asam 13omogen, asam lemak, serta senyawa 13omogen juga telah dilaporkan dari berbagai bagian tanaman. Rangkuman penelitian-penelitian tersebut disajikan pada Tabel 1 (Varun *et al*., 2022).

Pada bagian umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*), telah dilaporkan adanya senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas pencerahan kulit. Senyawa dominan yang teridentifikasi pada tuber berasal dari golongan isoflavonoid, terutama genistein dan daidzein, yang diketahui berperan dalam penghambatan enzimtirosinasesertaaktivitasantioksidan.Datakandunganmenunjukkanbahwa genisteinmemilikikadartertinggipadaumbibengkuang, yaitusekitar1655 μg/g, sehingga memberikan kontribusi terbesar terhadap efek whitening, sedangkan daidzein ditemukan dalam jumlah sekitar 329,93 μg/g. Keberadaan dan perbandingan kadar senyawa tersebut menjadi dasar teoritis dalam menjelaskan potensi umbi bengkuang sebagai sumber bahan aktif alami untuk formulasi pencerah kulit (Laovachirasuwan dan Phadungkit, 2023).

Tabel2.1 KandunganTumbuhanBengkuangdan Aktivitasnya

No	NamaSenyawa	Jenis	Jumlah/Hasil	Sampel	Aktivitas
1.	12a-Hydroxydolineone	Rotenoid	31μg/g	Biji	Terhadap HSVtipe1 dan2
2.	12a-Hydroxyerosone	Rotenoid	6μg/g	Biji	Tidak ada aktivitas
3.	12a-Hydroxyrotenone	Rotenoid	9μg/g	Biji	Antikanker danterhadap HSVtipe1 dan2
4.	Dehydrorotenone	Isoflavon	4μg/g	Biji	Aktivitas antijamur
5.	Rotenone	Rotenoid	153μg/g	Biji	Antikanker danaktivitas antijamur
6.	(8,9)-Furanyl-pterocarpan-3-ol	Pterokarpan	141,05μg/g	Umbi	Antioksidan danpencerah kulit
7.	2-Butoxy-2,5-bis(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3,4-diol	Lainnya	-	Umbi	Antioksidan danpencerah kulit
8.	4-(2-(Furane-2-yl)ethyl)-2-methyl-2,5-dihydro-furan-3-carbaldehyde	Lainnya	-	Umbi	Antioksidan danpencerah kulit
9.	Daidzein-7-O-β-glucopyranose / Daidzin	Isoflavonoid	329,93 ± 10,00μg/g	Umbi	Antioksidan danpencerah kulit
10.	Daidzein	Isoflavonoid	2356,10 ± 38,47μg/g	Sari umbi	Antioksidan danpencerah kulit
11.	Formononetin	7-hidroksiisoflavon	65,13±3,01 μg/g	Daun	Tidak ada aktivitas

Sumber:LaovachirasuwandanPhadungkit(2023)

Evaluasi terhadap ekstrak umbi bengkuang menunjukkan potensi sebagai sumber penghambat tirosinase alami. Uji aktivitas enzim mengungkap bahwa ekstrak mampu menghambat oksidasi L-DOPA oleh tirosinase jamur secara bergantung dosis, di mana penurunan aktivitas enzim berlangsung secara cepat, bukan hanya perlahan. Pola penghambatan tersebut sejalan dengan temuan sebelumnya yang melaporkan efek serupa dari ekstrak tanaman terhadap tirosinase. Kemampuan tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid, yang diketahui dapat menekan aktivitas tirosinase dan mengurangi pembentukan melanin pada melanosit (Laovachirasuwan dan Phadungkit, 2023).

Di antara berbagai fraksi yang diuji, ekstrak diklorometana dari umbi menunjukkanaktivitaspalingkuat,ditunjukkanolehnilaiIC50sebesar2,08±0,40 mg/mL, berhubungan dengan tingginya kandungan flavonoid total. Temuan ini selarasdenganlaporanLukitaningsihdankolega,yangmengidentifikasiflavonoid sepertidaidzeindan5-hydroxyldaidzein-7-O-β-glucopyranose sebagaikomponen utamapenghambat tirosinasedalam bengkuang. Selain itu, ekstraketilasetat dari bengkuang juga dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan tertinggi, sehingga semakin memperkuat konsistensi hasil tersebut dalam konteks penghambatan tirosinase berbasis senyawa flavonoid (Laovachirasuwan dan Phadungkit, 2023).

Biji dan daun tanaman bengkuang juga mengandung beragam senyawa fitokimia,yangmendorongminatparapenelitiuntukmengembangkannya

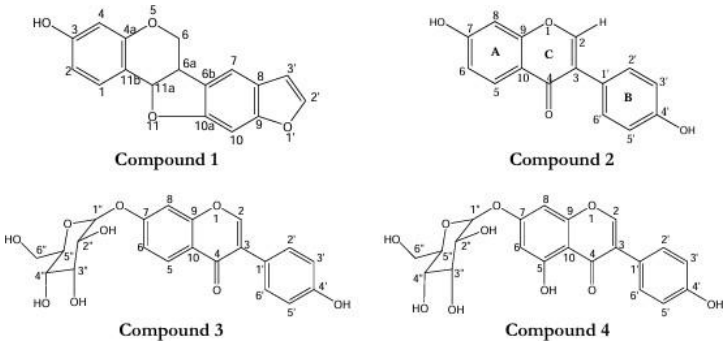
sebagai sumber bahan obat. Sejumlah penelitian telah menunjukkan potensi tanaman bengkuang dalam pengobatan berbagai penyakit serta kemampuannya meningkatkan kekebalan tubuh. Hal ini menegaskan bahwa tanaman tersebut memiliki prospek besar sebagai tanaman obat, meskipun masih tergolong kurang dimanfaatkan. Walaupun produksi dari pemanfaatan tanaman bengkuang diprediksi akan terus meningkat, kajian yang menyeluruh mengenai sifat farmakologis dan fitokimianya masih terbatas. Oleh karena itu, tinjauan ini berupaya merangkum informasi mengenai kandungan fitokimia dan aktivitas biologis dari berbagai bagian tanaman ini, yang diharapkan dapat menjadi dasar bagi pengembangan intervensi farmakologis alami untuk beragam penyakit serta peningkatan kesehatan dan aplikasi kosmetik (Sujono *et al.*, 2021)

Kandungan Kimia dan Bioaktivitas Senyawa Bengkuang *(Pachyrhizus erosus)*.

Dalam penelitian yang bertujuan mengeksplorasi aktivitas antioksidan dan efek pemutih kulit dari umbi tanaman bengkuang para ilmuwan berhasil mengidentifikasi enam senyawa aktif pada fraksi etil asetat. Senyawa-senyawa tersebut meliputidaidzein, daidzin, genistin, (8,9)-furanyl-pterocarpan-3-ol, 4-(2-(furane-2-il)etil)-2-metil-2,5-dihidro-furane-3-karbaldehida, serta 2-butoxy-2,5-bis(hidroksimetil)tetrahidrofuran-3,4-diol. Pada penelitian sebelumnya turut melaporkan keberadaan beberapa senyawa aktif pada umbi bengkuang memperkuatbuktimengenaiadanyatigaisoflavonoid,yaitudaidzein,daidzein-7-O-glukopiranoza, dan 5-hidroksi-daidzein-7-O-glukopiranoza, bersama dengan pterokarpan baru (8,9-furanyl-pterocarpan-3-ol) yang memiliki aktivitas. Selain itu,analisismenggunakanmetodeHPLCmenunjukkanbahwakandungan

daidzein dan genistein dalam umbi masing-masing mencapai 110,454 mg/100 g dan 165,530 mg/100 g (Lukitaningsih dan Holzgrabe, 2014).

Ekstraksi Soxhlet yang digunakan sebagai metode isolasi umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus)*, dengan eter petroleum sebagai pelarut dan diikuti dengan fraksinasi menggunakan etil asetat untuk mendapatkan tiga isoflavonoidyaitu daidzein, daidzein-7-O-ß-glukopiranosa, 5-hidroksi-daidzein-7-O-ß-glukopiranosa, dan sebuah pterokarpan baru yaitu 8,9-furanyl-pterocarpan-3-ol, yang aktivitas antioksidannya (nilai SC50%) masing-masing adalah 2,11; 11,86; 0,69 dan 7,86. Semua senyawa yang ditemukan menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase dengan nilai IC_{50}masing-masing 4,38; 5,35; 7,49 dan 22,20 mM, untuk senyawa 4, 2, 1 dan 3. Senyawa-senyawa ini dapat digunakan sebagai bahan antioksidan dan pemutih kulit Empat senyawa yang berhasil diidentifikasi senyawa 1, 2, 3, dan 4 dianggap sebagai kandidat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen pencerah kulit alami. Struktur kimia keempat senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2, yang diadaptasi dari (Lukitaningsih & Holzgrabe, 2014).



Gambar2.3 StrukturKimiaSenyawaTerisolasidalamEkstrakEtilAsetat
Sumber : Lee *et al* (2017)

Ekstrak dan senyawa yang terkandung di dalamnya menunjukkan potensi aktivitas yang mendukung penggunaannya dalamformulasikosmetik, khususnya untuk efek pencerah kulit dan anti-penuaan. Selanjutnya, penelitian juga menilai aktivitas antioksidan dari ekstrak umbi tanaman bengkuang berbasis air dan 18omogen menggunakan metode uji DPPH serta ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat asam)), yang membuktikan potensi ekstrak tersebut sebagai bahan kosmetik dengan aktivitas antioksidan dan anti-melanogenik. Penelitian terbaru melaporkan bahwa ekstrak etanol 70% dari kulit umbi bengkuang(PPE)danekstraketilasetat(PTE)jugamemilikiaktivitasantioksidan berdasarkan uji DPPH, serta menunjukkan efek pemutihan kulit melalui penghambatanenzimtirosinase, yangkembalimenegaskanpotensiumbitanaman bengkuangsebagaiagenanti-penuaandanpencerahkulit(Lee*etal*.,2017;Siregar *et al.*, 2019)

UmbiBengkuang(*Pachyrhizuserosus*)memilikikeuntunganuntuk menjagakesehatankulitdanmenghilangkanselkulitmati.Bengkuangjuga mengandungvitaminCyangdapatmenutrisikulitdanberfungsiuntuk

pembentukankolagendanprosespigmentasi,vitaminCdapatdiabsorpsiolehkulit . Bengkuang saat ini seringkali digunakan sebagai bahan *skincare* yang befungsi untukmenyegarkanwajahdanmencerahkankulit(Fitrah, *et.Al*.,2015;Yuniarsih, *et al.*, 2021).

JamurEndofit

DefinisiJamurEndofit

Mikroba Endofit, berupa bakteri dan jamur, merupakan mikroorganisme yang sebgaianbesar hidupnya beradadalamjarigantumbuhantanpa menimbulkan bahaya bagi inangnya. Beberapa jamur endofit mampu menghasilkan metabolit sekunderdansenyawabioaktifyangserupadenganyangdihasilkanolehtumbuhan inangnya. Jamur endofit mampu melakukan kolonisasi di ruang antar sel atau di dalam sel tanaman, dengan akar menjadi lokasi utama kolonisasi yang lebih sistematis dan dibandingngkan dengan daun dan batangnya. Pada stomatanya, kolonisasi ini lebih bergantung pada cairan apoplastik inang sebagai sumber nutrisinya. Selama prosen ini, jamur endofit dapat membentuk hubungan mutualistik (menguntungkan), komensalistik (tidak menguntungkan akan tetapi juga tidak merufikan), ataubahkan patogenik (tidak merugikan inang), tergantung pada kandungan fisiolofis suatu tanaman (Schluz *et al*., 2002 ; Maheswari *et al*., 2002).

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman sehat tanpa menimbulkan gejala penyakit ataupun perubahan morfologi pada tanaman tersebut, baik selama sebagian maupun sepanjang siklus hidupnya. Hubunganantarajamurendofitdantanamantelahberlangsungsangatlama,

bahkan diperkirakan mencapai lebih dari 400 juta tahun. Dalam kehidupannya, jamur endofitik biasanya tumbuh dalam bentuk miselium yang berasosiasi secara biologisdengantanamaninangnya.Kehadirannyatidakterbataspadajenistanaman tertentu,karenajamurendofitdapatditemukanpadaberbagaikelompoktumbuhan seperti pepohonan, rumput, tanaman herba, hingga umbi bengkuang hingga dapat diisolasi dengan metode pada tabel 2 (Maheswari *et al*., 2017).

Tabel2.2 TeknikIsolasiJamur Endofit

No	NamaMetode	Deskripsi	Kondisi Penggunaan
1.	Metode Tanam Langsung(Direct Tissue Plating)	Jaringan tanaman (akar, batang, daun, umbi) disterilisasipermukaannya laludiletakkanlangsungke media agar, seperti SDA PDAdanMEA.	Metode yang paling sering dipakaiuntuk isolasisemua tanaman.
2.	MetodeTuang(Pour Plate/ Spread Plate)	Jaringan dihancurkan atau dibuathomogen,lalucairan sampel dituang atau dioleskan di permukaan agar.	Isolatendofityang dicari berada di jaringan bagian dalam dan ingin mendapatkan banyak variasi.
3.	MetodePengenceran Bertingkat (Serial Dilution)	Sampel jaringan dihancurkan, lalu diencerkan 10x, 100x, 1000x, kemudian tiap pengenceranditanamke mediaagar.	Untukmengurangi koloni terlalu padat.
4.	Isolasi Hifa Ujung (HyphalTipIsolation)	Ujung hifa tunggal yang tumbuhdarijaringanatau koloni diambil menggunakan jarum inokulasi.	Digunakan jika tumbuhcampuran jamur dan dapat digunakan untuk mendapatkan kulturmurni.
5.	MetodeSeleksiMedia	Menggunakanmediayang	Untuk

No	NamaMetode	Deskripsi	Kondisi Penggunaan
	Khusus(Selective Media)	ditambahkanpewarna (Rose Bengal, chloramphenicol).	menghambat bakteriataujamur permukaan agar endofit 21omo muncul.
6.	MetodeKulturCair (Liquid Culture / Fermentasi)	Isolatdimasukkankemedia cair untuk memperbanyak hifa dan metabolit.	Tidak digunakan untukisolasitahap awal, tapi digunakan setelah isolasi untuk produksi metabolit.
7.	Metode Baiting (TeknikUmpan)	Potongan daun atau akar digunakansebagaiumpan untuk menarik jamur tertentudalamkondisi lembab.	Digunakanuntuk endofityangsulit tumbuh dengan cara biasa.
8.	Isolasi Spora Tunggal (SingleSporeIsolation)	Suspensi spora jamur disiapkan terlebih dahulu, kemudian spora yang terpisah (spora tunggal) diamati di bawah mikroskop stereo, lalu dipindahkan ke medium kultur steril untuk mendapatkankolonijamur murni (monospora).	Digunakan ketika penelitian membutuhkan jamur yang benar-benar homogen dan murni, misalnya untuk identifikasispesies atau uji aktivitas metabolit sekunder.

Sumber :Maheswari*et al*., (2017).

Istilahendofitdanjamurendofitikseringdigunakansecarabergantianuntuk menggambarkan keberadaan mikota yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan efek merugikan. Saat ini, endofit dianggap sebagai bagian penting dari keanekaragaman hayati global karena perannya yang signifikandalam menjaga keseimbangan ekosistem tanaman dan potensinya dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Jamur endofitik memiliki keragaman yang sangat

tinggi, dengan sebagian besar yang telah diidentifikasi termasuk dalam kelompok ascomycetes, meskipun banyak di antaranya belum diketahui bentuk teleomorfiknya. Berdasarkan hasilpenelitian, diperkirakan terdapat lebih darisatu juta spesies jamur endofit dialam. Keanekaragaman ini menjadikan jamur endofit sebagai sumber potensial bagi penemuan berbagai metabolit baru yang memiliki aktivitas biologis penting dan berpotensi dikembangkan untuk aplikasi di bidang pertanian, farmasi, maupun bioteknologi. (Maheswari *et al*., 2017).

InteraksiJamurEndofitdengan Inangnya

1. Mutualisme

Hubungan Mutualisme antara jamur dengan tanaman inangnya saling menguntungkan. Dalam halini, jamur membantutanamanmeningkatkantoleransi terhadap kekeringan, ligam berat, dan serangan patogen. Selain itu, jamur endofit juga mendukung pertumbuhan tanaman, efisiensi penyerapan nutrisi, serta system pertahanan terhadap serangan hama dan hewan pengganggu seperti herbivora. Dalamhalinitanamanmenyediakantempattinggal,perlindungan,dannutrisiyang dapat mendukung siklus hidup jamur. Interaksi ini juga dapat membantu meningkatkan system kekebalan tanaman dengan mengubah fisiologisnya untuk dapat merespons infeksi atau ancaman eksternal (Alam *et al*., 2021).

2. Komensalisme

Dalam hubungan komensalisme, jamur endofit ini dapat hidup di dalam jaringan tanaman tanpa memberikan dampak yang besar kepada kesehatan tanaman. Dalam kondisi yang normal jamur endofit ini sama sekali tidak pernah menimbulkan gejala apapun (Alam *et al*., 2021).

3. Patogenisme

Patogenismedalamjamurendofit(EF)dantanamaninangterjadiketikaEF bertransisi dari fase dormansi menjadi patogen aktif. Perubahan ini sering dipicu oleh stres lingkungan, seperti kekeringan, kekurangan nutrisi, atau perubahan fisiologi tanaman, seperti penuaan atau gangguan ontogenetik. Dalam kondisi ini, EF dapat menyebabkan gejala penyakit pada tanaman, sepertinekrosis, klorosis, dan perubahan morfologi (Alam *et al*., 2021).

Beberapa jenis jamur, seperti*Cladosporium*, *Fusarium*, dan*Colletotrichum*, dapat hidup secara laten di dalam jaringan tanaman. Namun, ketika berubah menjadi fase patogen aktif, jamur-jamur tersebut mampu memengaruhi morfologi danfungsitanaman,sehinggamenimbulkankerugiansignifikan.Fasedormansiini memiliki peran penting karena menentukan saat jamur tersebut bersifat tidak berbahaya dankapan berubah menjadiorganisme patogen yang merusak (Alam *et al*., 2021).

Klasifikasidan InteraksiUmumJamurEndofit

Jamur endofit dapat diklasifikasikanberdasarkanaspek ekologi, keragaman, serta fungsinya. Dari segi reproduksi, jamur ini dibedakan menjadi jenis seksual dan aseksual, tergantung pada cara pembentukan sporanya. Selain itu, pengelompokan juga dapat dilakukan berdasarkan pola transmisinya, yaitu secara horizontal atau vertikal. Transmisi horizontal terjadi ketika spora atau propagul vegetatif yang dihasilkan endofit menyebar melalui udara atau vektor tertentu ke tanaman lain. Sebaliknya, transmisi vertikal berlangsung ketika jamur

berpindah dari tanaman induk ke keturunan melalui biji (Bamisile *et al*., 2018 ; Lugtenberg *et al*., 2016).

Dari sisi infeksi dan interaksi dengan inang, jamur endofit juga diklasifikasikan sebagai simptomatik atau asimptomatik, tergantung pada ada tidaknya gejala yang ditimbulkan pada tanaman. Berdasarkan lokasi kolonisasi, merekadapatdikelompokkansebagaiendofitakarataudaun.Selainitu,klasifikasi juga mencakup cara memperoleh nutrisi, yaitu menjadi jamur biotrofik yang mengambil nutrisi dari jaringan hidup tanpa merusaknya, atau jamur nekrotrofik yang menimbulkannekrosis dan memanfaatkan jaringantanamanyang telah mati untuk pertumbuhannya (Noemi & Efrelon, 2021).

IdentifikasiJamurEndofit

Ciri-ciri makroskopis jamur endofit dapat diamati berdasarkan warna, bentuk, serta pola pertumbuhan koloninya menggunakan metode yang dijelaskan olehDoschetal.,(1980).Selainpengamatansecaramakroskopis,identifikasiyang lebih mendalam dilakukan melalui pengamatan mikroskopis. Pemeriksaanini mencakup penilaian terhadap bentuk konidiofor (bercabang atau tidak),struktur fialid, serta morfologikonidia yang dapat berbentuk bulat, lonjong, elips, maupun memanjang. Warna konidia juga bervariasi, mulai dariterang, hijaumuda, gelap, hitam,hinggacokelat.Pengamatanmikroskopisdilakukanpadaharikelimasetelah isolasimenggunakanmikroskopbinokuler.Untukmenyiapkanpreparat,hifajamur endofitdiambildenganjarumose,diletakkandiataskacaobjek,laluditutupdengan kaca penutup steril. Preparat tersebut kemudian diamati

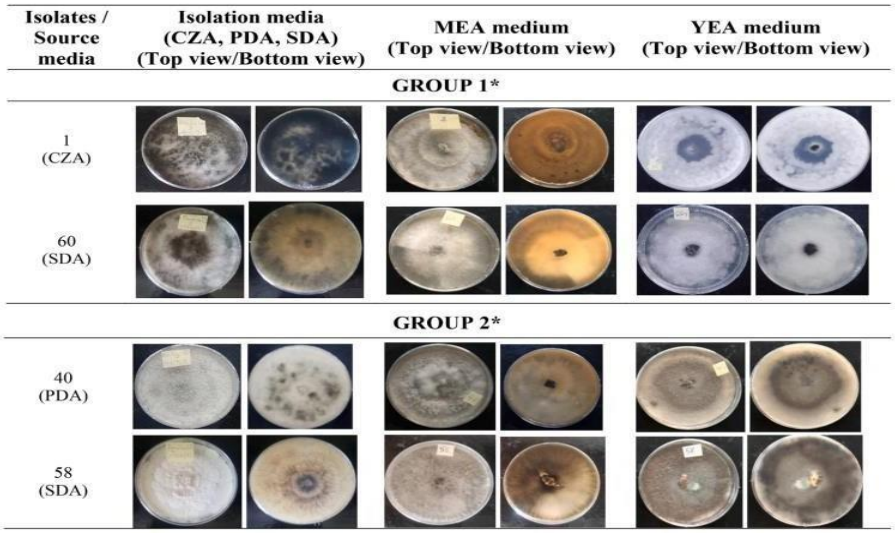
dibawahmikroskopbinokulerdenganperbesaran4×10untukmemperolehvisualisasi struktur jamur secara lebih detail.

1. KarakteristikMakroskopis

Koloni jamur endofit umumnya diamati melalui sejumlah parameter yang mencakupwarna,tekstur,bentukpermukaan,polapertumbuhan,sertastrukturtepi koloni.Warnakoloni,baikpadapermukaan(*surface*)maupunbagianbawahmedia (reverse), sering kali berbeda antar isolate misalnya putih, krem, hijau, abu-abu, atauwarnagelap lainnyadanperbedaaninidapat menjadiindikator pentingdalam membedakangenusatauspesiestertentu.Teksturkolonijuga menunjukkanvariasi yang besar, mulai dari *cottony/woolly* dengan miselium yang tampak tebal menyerupai kapas, velvety dengan permukaan seperti beludru, granular/*powdery* yang tampak berbutir, hingga *slimy*/mucilaginous yang berlendir. Pada beberapa jenis seperti Trichoderma, tekstur *wol-like* atau *woolly* sering mencerminkan keberadaan aerial mycelium yang kuat (Demeni *et al*., 2025).

Selain itu, topografi koloni berkontribusi pada diferensiasi antar isolat, dengan bentuk seperti umbonate (pusat menonjol), rugose (berkerut), verrucose (berbenjol kecil), plane/flat, atau convex. Banyak isolat juga menampilkan pola *zoning* atau *concentric rings*, yaitu cincin-cincin konsentris berupa perbedaan warna atau kerapatan miselium yang biasanya terbentuk akibat perubahan laju pertumbuhanatauproduksispora.Polalainberuparadiallinesataustriations,yaitu garis-garisyangmemancardaripusatkolonimenujutepi,yangberbedadarizonasi melingkardandapat menjaditandakarakteristiksuatukelompokjamur(Demeni*et al*., 2025).

Tepi koloni (colony margin) pun menjadi parameter penting untuk identifikasi, karena bentuk tepi dapat bervariasi dari entire (rata), undulate (bergelombang), lobate (berlobus), fimbriate (berserabut atau berumbai), hingga erose(tampak robektidak beraturan). Sementara itu, keberadaanaerialmycelium-miselium yang tumbuh menjulang di atas permukaan media juga dicatat, karena mempengaruhi tekstur dan tampilan koloni secara keseluruhan, termasuk menimbulkan efek fluffy atau villous. Beberapa isolat menghasilkan eksudat, berupa tetesan cairan atau pigmen pada permukaan media, yang merupakan ciri tambahan yang relevan untuk keperluan identifikasi (Demeni *et al*., 2025).



Gambar2.4 KarakteristikMakroskopikJamurEndofitMurni Sumber : Demeni *et al.,* (2025)

2. KarakteristikMikroskopis

a) StrukturMiselium(Hifa)

Pengamatan terhadap miselium atau hifa jamur endofit dilakukan untuk menilaibeberapaaspekpentingsepertikeberadaansepta(sekat),polapercabangan, sertakarakteristikwarnahifaapakahhialin(transparan)atau berpigmen.Secarakeseluruhan,parametermiseliummemilikiperananpenting

karena perbedaan pola pertumbuhan hifa dapat mencerminkan adaptasi jamur terhadaptanaman inang atau media pertumbuhan, sekaligus memberikanpetunjuk mengenai posisi taksonomi dari isolat jamur tersebut (Sonia *et al*., 2025).

b) Spora/Konidia

Spora atau konidia menjadi salah satu parameter mikroskopis yang paling sering digunakan dalamidentifikasijamur endofit. Aspek yang diamati mencakup bentuk, ukuran, orientasi konidia pada konidiofor, serta tingkat dan kepadatan sporulasi. Selain itu, deskripsi morfologi konidia pada berbagai penelitian sering kali dilengkapi dengan tabel karakter mikroskopis yang mempermudah perbandingan dengan referensi taksonomi klasik, sehingga identifikasi bisa dilakukan dengan lebih akurat (Sonia *et al*., 2025).

c) SeptasidanCabangHifa

Septasi, yaitu ada tidaknya sekat pada hifa, serta pola percabangan merupakan parameter mikroskopis yang sangat penting dalam membedakan kelompok jamur difokuskan pada keberadaan septa, bentuk percabangan hifa, dan warnahifa.Informasimengenaiseptasidanpercabanganhifasangatrelevankarena karakter ini membantu menentukan apakah suatu jamur termasuk ke dalam kelompok Ascomycota, Zygomycota, atau kelompok lain yang memiliki ciri khas hifa tertentu (Sonia *et al*., 2025).

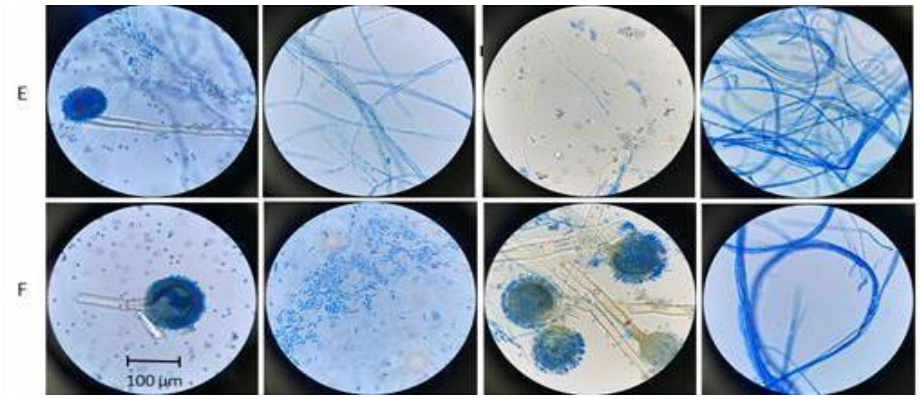
d) BentukdanTipeKonidiofor / StrukturReproduktif

Konidiofor sebagai struktur yang menghasilkan konidia turut menjadi parameter penting dalam kajian mikroskopis. Beberapa ciri yang diperhatikan meliputiapakahkonidioforbercabangatautidak,panjangataupendek,serta

apakahstrukturnyaberpigmenatauhialin.Keunikanbentukdanstrukturkonidiofor pada setiap genus membuat parameter ini sangat berguna dalam membedakan jamur endofit satu dengan yang lain (Sonia *et al*., 2025).

e) WarnadanPigmentasiSpora/Hifa

Warna atau pigmentasi pada spora dan hifa turut diperhatikan dalam identifikasi mikroskopis.Pigmentasi merupakan karakter penting karena dapat mencerminkan adaptasi fisiologis jamur terhadap lingkungannya serta membantu memperkuat informasi taksonomis ketika dipadukan dengan parameter mikroskopis lainnya (Sonia *et al*., 2025).



Gambar 2.5 Makroskopis berupa Hifa generatif dan miselium (E) serta konidiofor dan konidia (F). Sampel diwarnai dengan Lactophenol blue, diamati di bawah mikroskop LRI-Olympus pada perbesaran 100×/0,65, dengan skala 1:200.
Sumber :Demeni*et al.*,(2025)

Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh jamur endofit berperan penting dalammendukungketahanantanamaninangterhadapberbagaitekananlingkungan, baikyangbersifatbiotikseperti seranganpatogendanhama,maupunabiotikseperti kekeringan,suhuekstrem,dankekurangannutrisi.Kehadiransenyawa-senyawaini membantu tanaman beradaptasi dan bertahan hidup di lingkunganyang kurang menguntungkan.Meskipun beberapa tanaman memiliki

keterbatasan dalam merespons patogen tertentu secara imunologis, keberadaan endofit di dalam jaringan tanaman mampu memperkuat sistem pertahanan alami tanaman tersebut (Maheswari *et al*., 2017).

Endofitjamurumumnyajugadiidentifikasiberdasarkancirimorfologisnya, mereka dapat diisolasi dari jaringan tanaman inang mereka dan dikulturkan dalam mediapertumbuhanyangpalingsesuaiuntukidentifikasidanklasifikasimorfologis menurut Clark et al., (1983). Namun, selain karakterisasi morfologis, ada disarankanbahwa isolasidankarakterisasi molekuler endofit entomopatogensangat penting untuk memperluas data yang ada mengenai jamur entomopatogen. Klasifikasi filogenetik molekuler untuk mengidentifikasi endofit dapat dilakukan melalui amplifikasi dan pengurutan fragmen kecil DNA jamur. Praktik ini melibatkan analisis asam nukleat dan protein untuk mempelajari hubungan evolusioner endofit jamur (Bamisope *et al*., 2018).

Jamurendofitbertindaksebagaipelindunginternalyangdapatmenstimulasi mekanisme pertahanan inang melalui produksi senyawa antimikroba, enzim protektif,danmetabolitsekunderlainnya.Menariknya,banyakJamurendofityang mampu menghasilkan senyawa yang secara struktural maupun fungsional mirip dengan metabolit yang dihasilkan oleh tanaman inangnya, sehingga memberikan kontribusi tambahan terhadap resistensi dan ketahanan tanaman terhadap berbagai tekanan eksternal (Maheswari, *et al*.,2017).

Selainitu,komunitasjamurendofit padatanamanmemilikikeragamanyang sangat luas dan kompleks. Setiap spesies endofit dapat menunjukkan perbedaan dalamhalpreferensiterhadapjenistanamaninang,jaringantempat

kolonisasi, hinggakemampuandalammensintesis poliketidadansenyawa bioaktif lainnya. Distribusi jamur endofit juga bervariasi di berbagai wilayah geografis, tergantung pada kondisi lingkungan, iklim, dan jenis tanaman yang menjadi inangnya. Dalam dekade terakhir,penelitian mengenai biologi dan ekologi mikroorganisme endofitik semakin berkembang pesat. Studi-studi tersebut memberikan pemahaman mendalam tentang bagaimana keanekaragaman hayati dan aktivitas biokimia endofit berperan penting dalam meningkatkan kebugaran serta produktivitas tanaman. Walaupun banyak bukti menunjukkan bahwa endofit dapat meningkatkan biomassa tanaman dibawah kondisi stres, mekanisme seluler dan molekuler yang mendasari peningkatan toleransi terhadap stres dan pertumbuhantersebut masih belumsepenuhnyadipahami, sehingga menjadifokus penelitian yang menarik bagi para ilmuwan di bidang mikrobiologi dan bioteknologi pertanian (Maheswari *et al*., 2017).

Jamur endofit adalah mikroorganisme yang berkoloni di bagian dalam jaringan tumbuhan yaitu pada akar, batang, daun, bunga atau biji tanpa menimbulkan efek yang merugikan pada tumbuhan inangnya. Jamur endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa aktif secara biologis yang mempunyai kemiripan atau sama dengan tanaman inangnya. Selain itu bioaktif yang dihasilkanoleh jamur endofit juga berguna dalam industripertanian, farmasi dan bidang kedokteran (Andreozzi, *et al*., 2019; Rashmi, 2019).

Jamur endofit hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan penyakit maupun kerusakan pada inangnya, serta menjalin interaksi yang sangat kompleksdengantanamantersebut.Selainmemproduksihormonyangdapat

merangsangpertumbuhantanamandanmeningkatkanketahanannyaterhadapstres abiotik, jamur endofit juga mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder bioaktif, termasuk senyawa yang serupa dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya (Du *et al*., 2020 ; Gupta *et al*., 2020).

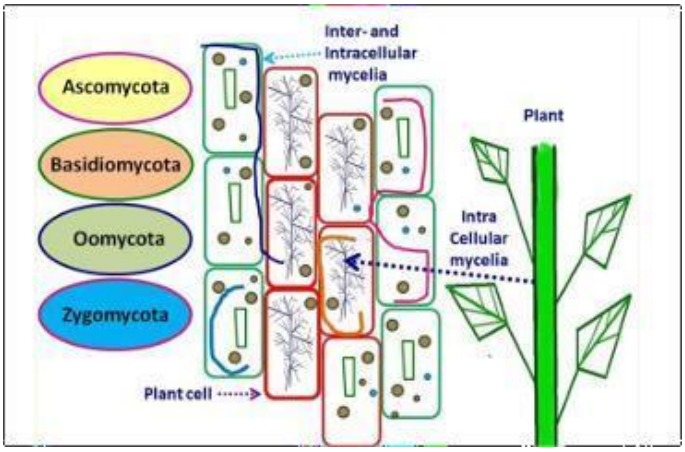
Secara umum, kelompok jamur endofit cenderung memiliki spesifisitas terhadap satu jenis inang pada tingkat spesies, yang dapat dipengaruhi oleh faktor mikroklimat dan mikrohabitat. Interaksiiniterutama dimediasi oleh jamur endofit itu sendiri, yang mampu memproduksi berbagai senyawa alami dalam jumlah berlebih ketika dikultur di luar lingkungan inang alaminya atau dalam kondisi uji in vitro (Deng & Cao, 2017).

InteraksiTanamandenganJamurEndofit

Interaksi antara tanaman dan jamur endofit merupakan hubungan biologis yang sangat kompleks dan terkontrol dengan baik. Endofit mampu hidup dan berkembang di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit apa pun karena terdapat keseimbangan halus antara aktivitas mikroba dan respons pertahanan tanaman inang. Hubungan ini terbentuk melalui mekanisme fisiologis dan molekuler yang saling menyesuaikan antara kedua organisme, sehingga keduanya dapat memperoleh manfaat tanpa merugikan satu sama lain. Dalam konteksekologis,simbiosisantaraendofitdantanamanmencakuprentanginteraksi yangluas,mulaidaribentukantagonismeyangkuathinggamutualismeyangsangat erat (Maheswari *et al*., 2017).

Hubungan mutualistik ini diyakini berevolusi dari interaksi yang awalnya bersifat antagonistik, khususnya parasitisme, sebagaimana yang juga diasumsikan

terjadi pada jamur endofitik yang hidup di dalam rumput dan tanaman berkayu. Variasi dalam hubungan antara dua spesies yang berinteraksi dipengaruhi oleh banyakfaktor,termasukketerbatasanfilogenetik,sejarahhiduporganisme,kondisi geografis, serta interaksi dengan spesies lain dalam komunitas ekosistem. Selain itu,faktorlingkungannon-hayatisepertisuhu,kelembapan,danketersediaannutrisi turut memengaruhi arah dan intensitas hubungan tersebut. Oleh karena itu, simbiosis mikroba dengantanaman inang dapat berada disepanjang spektrumdari hubungan yang bersifat patogenik hingga mutualistik, bahkan dalam satu siklus hidup yang sama, menunjukkan betapa dinamis dan adaptifnya interaksi endofit-tanaman di alam (Maheswari *et al*., 2017).



Gambar2.6 KlasifikasiJamurEndofit danKeberadaannyadiSelTanaman Sumber : Yamamoto *et al*., (2017)

Keseimbangan antara patogen jamur dan tanaman inangnya terjadi ketika keduanya mencapai kondisi stabil, di mana patogen hidup berdampingan dengan jaringaninangtanpamenimbulkankerusakanyangberartikeadaaninidikenal

sebagai bentuk patogen yang paling minimal. Tingkat virulensi patogen sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan spesifik dari inangnya. Ketika patogen tersebut diisolasi dari tanaman yang tidak menunjukkan gejala dan kemudian diinokulasikan ke inang baru, dapat muncul respons patogen yang lebih kuat. Secara umum, jamur endofit memiliki peran yang bervariasi, mulai dari patogen laten hingga simbion mutualistik. Berdasarkan tipe genom inangnya, beberapa endofitjamurdapatberubahmenjadipatogenpadatanamanyangmengalamistres, namundalamkondisilainjustrumemberikanmanfaatkarenasifatpatogennyayang bersifat kondisional (Yamamoto *et al.*, 2017).

InteraksiAntarJamurEndofit

Interaksi antara sesama jamur endofit merupakan aspek penting yang kini banyak mendapat perhatiandalampenelitian mikrobiologimodern. Berbagaistudi menunjukkan bahwa hubungan antarmikroba dapat berperan besar dalam memicu produksi metabolit sekunder pada jamur. Proses ini diduga melibatkan molekul-molekulisyaratberukurankecilyangdapatberdifusi,sepertisinyalquorumsensing atau senyawa pemicu lain, yang berfungsi mengaktifkan jalur biosintesis tertentu yangsebelumnyatidakaktif.Dalamsuatukomunitasmikroba,setiapmetabolitatau produk alami yang dihasilkan oleh satu mikroorganisme dapat memengaruhi pola metabolisme mikroorganisme lain yang hidup berdampingan dalam habitat yang sama. Kondisi serupa juga terjadi pada komunitas endofitik, di mana hasil metabolik darisatu endofit dapat memicu perubahan fisiologis maupun biokimia pada endofit lainnya, sehingga terbentuk dinamika interaksi yang kompleks di dalam jaringan tanaman inang (Maheswari *et al*., 2017).

InhibitorEnzimTirosinase

Tirosinaseadalahenzimyangmengaturpembentukanmelanindalamproses melanogenesis. Enzim ini mengubah L-tirosin menjadi L-DOPA, lalu menjadi dopaquinon yang kemudian membentuk melanin. Aktivitas tirosinase meningkat oleh sinar UV, sehingga produksi melanin bertambah. Inhibitor tirosinase dapat mengurangi melanin dan mencegah hiperpigmentasi (Himawan, 2016).

Tirosinase merupakan enzim logam yang termasuk dalamkeluarga protein tembaga tipe-3, yang memiliki dua ion tembaga pada daerah aktifnya. Enzim ini terdapat pada berbagai organisme, baik prokariot maupun eukariot, seperti tumbuhan, jamur, arthropoda, dan mamalia. Fungsinya berkaitan dengan proses pembentukan pigmen, penyembuhan luka, perlindungan terhadap radiasi, serta respons imunawal. Tirosinase berperandalamdua reaksienzimatik berturut-turut, yaitu hidroksilasi monophenol dan oksidasi diphenol menjadi quinon, yang kemudian mengalamipolimerisasispontan membentuk melanin. Dua anggotalain dari kelompok protein ini adalah katekol oksidase, yang biasanya terdapat pada tumbuhan dan hanya mengkatalisis tahap oksidasi kedua, serta hemocyanin, yang tidakbersifatenzimatikdanberperansebagaipengangkutoksigen.Dalambeberapa tahunterakhir,sejumlahstrukturtirosinasedaritumbuhandanbakteritelahberhasil diidentifikasi, termasuk kompleksnya dengan substrat atau inhibitor, sehingga memberikan pemahaman mengenai residu dan fitur penting dalam pengikatan tembaga serta proses katalitiknya (Margarita *et al*., 2015).

StrukturEnzimTirosinase

Tirosinase merupakan metaloenzim yang termasuk dalamkeluarga protein tembaga tipe-3 (*type-3 copper proteins*), bersama dengan *catechol oxidase* (CO) dan *hemocyanin* (Hc). Enzim ini memiliki dua ion tembaga (CuA dan CuB) pada pusataktifnyayangmasing-masingberikatandengantigaresiduhistidin.Keduaion tembaga ini berperan penting dalam proses oksidasi substrat fenolik.

Secaraumum,strukturtirosinaseterbagimenjaditigadomainutama, yaitu:

1. Domain tengah(centraldomain)

   Mengandungenamresiduhistidinyangterkonservasidanmembentuksitus aktif dengan dua ion tembaga pengoksidasi (CuA dan CuB).

2. DomainterminalN(N-terminaldomain)

   Berfungsisebagaipeptidatransityangmenentukanlokasiakhirenzim.Pada tumbuhan,mengarahkanenzimkekloroplas;padamamalia,berperandalam transfer ke melanosom;danpada bakteri, mengandung peptida sinyalTAT untuk sekresi protein.

3. DomainterminalC(C-terminaldomain)

   Berperan sebagai penutup (placeholder) pada bentuk tidak aktif (*pro-tyrosinase*), yang akan dilepaskan melalui proteolisis agar enzim menjadi aktif.

Selain itu, beberapa spesies seperti *Aspergillus oryzae* dan moluska menunjukkanadanyaikatantioseterantararesiduhistidinpengikatCuAdan

sisteindidekatnya,yangberfungsimenstabilkanstruktursitusaktif(Kanteev*etal.*, 2015).

MekanismeKerja(ReaksiKatalitik)

Enzim tirosinase merupakan enzim yang berperan penting dalam proses biosintesis melanin melalui dua tahapan reaksi berurutan yang menggunakan oksigen molekuler (O_2) sebagai ko-substrat. Tahap pertama disebut sebagai aktivitas monophenolase (cresolase), yaitu reaksi hidroksilasi terhadap senyawa monofenol, seperti tirosin atau fenol, menjadi o-difenol. Pada tahap ini, gugus hidroksil (-OH) ditambahkan ke posisi orto dari cincin aromatik fenol, sehingga menghasilkan senyawa seperti L-DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin). Tahapan ini membutuhkan enzim tirosinase dalam bentuk oxy-tyrosinase, yang mengandung dua ion tembaga (Cu^{2+}) teroksidasi dan berikatan dengan molekul oksigen dalam bentuk peroksi (Cu^{2+}–O_2^{2-}–Cu^{2+}) (Kanteev *et al.*, 2015).

Selanjutnya, tahap kedua dikenal sebagai aktivitas diphenolase (atau catecholase), yaitu reaksi oksidasi o-difenol menjadi o-quinon. Dalam reaksi ini, substrat seperti L-DOPA diubah menjadi DOPAquinon melalui pelepasan dua elektron dan dua proton, sementara enzim mengalami reduksi dari bentuk aktif (Cu^{2+}) menjadi bentuk tereduksi (Cu^{+}). Produk o-quinon yang terbentuk sangat reaktif dan akan mengalami polimerisasi spontan di luar situs aktif enzim, membentuk pigmen melanin yang berperan dalam pewarnaan kulit, rambut, dan perlindungan terhadap radiasi ultraviolet. Kedua reaksi ini berlangsung secara berurutandansalingbergantung,dimanahasildaritahappertamamenjadisubstrat bagi tahap berikutnya. Dengan demikian, tirosinase memiliki peran ganda

sebagaikatalisdalamhidroksilasidanoksidasisenyawafenolikyangmenjadidasar dari proses melanogenesis (Kanteev *et al*., 2015).

Enzim tirosinase bekerja melalui perubahan dinamis dari pusat aktif yang mengandung dua ion tembaga (CuA dan CuB). Kedua ion ini mengalami siklus oksidasi–reduksiselama proses katalitik berlangsung. Menurut modelRamsden & Riley (2014), terdapat empat keadaan oksidasi utama yang menentukan aktivitas enzim, yaitu met-tyrosinase, deoxy-tyrosinase, oxy-tyrosinase, dan deactivated form. Keempat bentuk ini berperan dalam reaksi berurutan yang mengubah monophenol menjadi o-difenol, kemudian menjadi o-quinon yang akhirnya membentuk melanin (Kanteev *et al*., 2015).

1. Met-tyrosinase(Cu(II)–Cu(II))

Bentuk ini merupakan keadaan dominan dan paling stabil dari tirosinase dalam kondisi fisiologis. Pada keadaan ini, kedua ion Cu berada dalam bentuk Cu(II) dan berikatan dengan molekul ion hidroksida (OH^-) di pusat aktif. Bentuk met-tyrosinase memiliki kemampuan untuk mengoksidasi o-difenol menjadi o-quinon, tetapi tidak dapat menghidroksilasi monophenol, karena konfigurasinya tidak memungkinkan pembentukan ikatan dengan molekul oksigen. Setelah mengoksidasi substrat diphenol, bentuk ini mengalami reduksi menjadi deoxy-tyrosinase.

2. Deoxy-tyrosinase(Cu(I)–Cu(I))

Merupakan hasil reduksi dari bentuk met setelah oksidasi diphenol. Pada keadaanini, kedua ionCu beradadalambentuk Cu(I)dantidak mengikat oksigen. Bentuk deoxyberperan penting sebagai perantara yang dapat menangkap oksigen

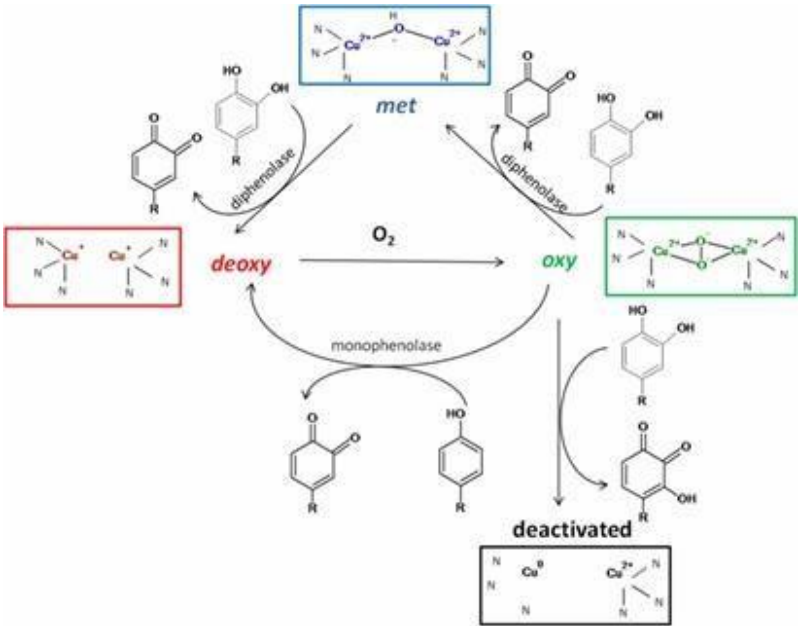
molekuler(O_2)darilingkunganuntukmembentukbentukaktifberikutnya,yaitu oxy-tyrosinase.

3. Oxy-tyrosinase(Cu(II)–O_2^{2-}–Cu(II))

Pada bentuk ini, molekul oksigen terikat di antara kedua ion Cu dalam konfigurasi μ-peroksi (O_2^{2-}). Inilah bentuk paling aktif secara katalitik, yang mampu melakukan hidroksilasi terhadap monophenol menjadi o-difenol. Oxy-tyrosinase memfasilitasipenambahan gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatik fenol melalui mekanisme serangan elektrofilik. Setelah reaksi berlangsung, oxy-tyrosinase melepaskan produk o-difenol dan kembali ke bentuk met atau deoxy, tergantung kondisi redoks sistem.

4. Deactivatedform(Cu(0))

Bentuk ini muncul akibat reaksi “suicide inactivation”, yaitu kondisi di mana enzim kehilangan aktivitasnya akibat akumulasi substrat diphenol atau produk antara yang bereaksi dengan situs aktif. Dalam bentuk ini, pusat aktif mengalami reduksi penuh hingga Cu(0), sehingga tidak lagi mampu mengikat oksigen maupun mengkatalisis reaksi oksidasi. Fenomena ini menyebabkan penurunan efisiensi enzim dan berperan sebagai mekanisme pengendalian alami aktivitas tirosinase.



Gambar2.7 Tingkatoksidasitirosinasesebelummembentukpigmen melanin. Empatkeadaanterpisahdarisitusaktiftirosinase Sumber : Ramsden dan Riley (2014)

Tirosinase merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis melanin melalui dua tahap reaksi enzimatik yang berlangsung secara berurutan. Tahap pertama adalah hidroksilasi monophenol menjadi o-diphenol, yang dikenal sebagai aktivitas monophenolase, sedangkan tahap kedua adalah oksidasi o-diphenol menjadi o-quinon, yang disebut aktivitas diphenolase. Produk o-quinon yang dihasilkan kemudian mengalami polimerisasi spontan membentuk pigmen melanin. Mekanisme kerja tirosinase dikendalikan oleh empat keadaan oksidasi pada situs aktifnya, yaitu met-tyrosinase, deoxy-tyrosinase, oxy-tyrosinase, dan deactivated form. Bentuk met-tyrosinase merupakan bentuk paling umum, dengan dua ion tembaga (Cu^{2+}) yang berikatan dengan ion hidroksida. Deoxy-tyrosinase memilikiduaionCudalamkeadaanCu^{+}(Cu(I))yangsiapmengikatoksigen,

sementara oxy-tyrosinase adalah bentuk aktif dengan dua Cu^{2+} yang berikatan dengan molekul O_2 dalam konfigurasi peroksi untuk melakukan oksidasi substrat. Bentuk deactivated formterjadiketika enzim mengalamioksidasi berlebihan yang menyebabkan penurunan aktivitas, dikenal sebagai suicide inactivation. Dalam setiap siklus katalitik, terjadi perubahan redoks antara Cu(I) dan Cu(II) serta pembentukan ikatan sementara dengan substrat fenolik. Perbedaan utama antara tirosinase dan catechol oxidase terletak pada fleksibilitas struktur situs aktifnya; tirosinase memiliki ruang aktif yang lebih terbuka sehingga mampu mengakomodasi baik monophenol maupun diphenol sebagai substrat (Kanteev *et al.*, 2015).

MekanismeMolekulerKatalisisTirosinasehinggaPembentukanMelanin Reaksi yang dikatalisis oleh enzim tirosinaseberlangsung dalam beberapa tahapanyang melibatkan pengikatan substrat, deprotonasi, oksidasiatau hidroksilasi, dan pelepasan produk. Semua proses ini terjadi di pusat aktif enzim yangmengandungduaiontembaga(CuAdanCuB)yangterkoordinasiolehenam residuhistidindalamsusunanheliksα.

1. PengikatanSubstrat

Tahapan awal diawali dengan masuknya substrat, berupa monofenol (misalnya tirosin) atau difenol (seperti L-DOPA) ke dalam situs aktif enzim. Substrat berinteraksi dengan ion CuA dan CuB melalui gugus hidroksil aromatiknya. Interaksi ini distabilkan oleh ikatan π–π antara cincin aromatik substrat dan residu histidin His208, serta interaksi elektrostatik dengan Arg209 yang berperan penting dalam pengaturan orientasi substrat agar tepat menghadap

pusatkatalitik.MenuruthasilkristalografipadaGambar5(hlm.1367),baiktirosin maupun L-DOPA memilikiorientasipengikatan yang hampir sama terhadap CuA danCuB, menunjukkan bahwa lokasipengikatan kedua jenis substrat berada pada posisi yang serupa.

2. DeprotonasiSubstrat

Setelah pengikatan, proton dari gugus hidroksil substrat dilepaskan untuk membentuk bentuk anion fenolat yang lebih reaktif. Proses deprotonasi ini difasilitasi oleh molekul air yang terikat secara struktural di pusat aktif, yang diaktifkanolehresidu Glu195 danAsn205. Duaresidu ini berperansebagaisistem katalitik penting yang menstabilkan air dan berfungsi sebagai akseptor proton. Dalam jurnal ini dijelaskan bahwa mekanisme ini merupakan jalur paling efisien secara energi (energetically feasible) untuk memulai reaksi oksidasi.

Deprotonasiinitidak hanya mengaktifkansubstrat,tetapijuga menyiapkan kondisibagioksigenterikat(O_2^{2-})diantaraCuAdanCuBuntukbertindaksebagai agen oksidasi atau hidroksilasi pada tahap selanjutnya.

3. HidroksilasidanOksidasi

Tahap berikutnya adalah reaksi katalitik utama, yaitu penambahan gugus hidroksil atau oksidasi substrat.

a) Pada substrat monofenol, kompleks oksigen peroksi (Cu(II)–O_2^{2-}–Cu(II)) yang terbentuk pada bentuk oxy-tyrosinase menyerang posisi orto dari cincin aromatik, menambahkan gugus –OH dan menghasilkan o-difenol misalnya L-DOPA.

b) Padasubstratdifenol,reaksioksidasiberlangsungdenganpelepasan dua elektron dan dua proton, mengubah L-DOPA menjadi DOPAquinon (o-quinon), sementara situs aktif mengalami reduksi menjadi deoxy-tyrosinase (Cu(I)–Cu(I)).

HasilpenelitianKanteevetal.,(2015)menunjukkanbahwamekanismeini melibatkan rotasi histidin yang berkoordinasi dengan CuA dan distorsi kecil pada jembatan peroksi Cu_2O_2 untuk memungkinkan serangan elektrofilik terhadap substrat fenolik.

c) PelepasanProdukdanPembentukanMelanin

Setelah proses oksidasi, produk o-quinon yang terbentuk akan dilepaskan darisitusaktifenzim.O-quinonmerupakanmolekulyangsangatreaktifdan tidak stabil; setelah dilepaskan ke lingkungan, ia akan mengalami reaksi polimerisasi spontan melalui serangkaian reaksi non-enzimatik yang melibatkantautankovalenantarmolekulo-quinondanderivatifnya.Reaksi ini menghasilkan polimer kompleks berwarna gelap yang dikenal sebagai melanin.

MekanismeInhibitorTirosinase

Melanogenesis dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk paparan sinar UV, konsumsi alkohol, kondisi emosional, pola makan, serta paparan nikotin, dengan sinar UV sebagai faktor utama. Proses pembentukan melanin, baik feomelanin maupun eumelanin, diawali dari oksidasi L-tirosin (L-tyr) dan/atau L-dihidroksifenilalanin (L-dopa) menjadi dopaquinone (DQ) oleh enzim tirosinase. Selanjutnya, DQ mengalami serangkaian reaksi radikal hingga terbentuk melanin.

Terdapat dua tahap yang menjadi penentu kecepatan sintesis melanin. Eumelanin menghasilkanwarnacokelathinggahitamdanmemilikikemampuanperlindungan yang lebihtinggiterhadapradiasiUV.Sebaliknya,feomelanin lebih mudahterurai oleh cahaya dan dikaitkan dengan peningkatan kerentanan terhadap kerusakan akibat UV (Yuqiong *et al*., 2022).

Sinar UVB dapat memicu stres oksidatif yang meningkatkan sensitivitas kulit terhadap kerusakan, sementara sinar UVA memiliki efek langsung terhadap struktur DNA. Secara fisiologis, melanogenesis berperan penting sebagai sistem pertahanan kulit dalam menyerap sinar UV untuk mencegah kerusakan akibat paparan matahari. Melanosit berada pada kondisi stres oksidatif tingkat rendah secara konstan, namun paparan UV yang berlebih dapat meningkatkan produksi radikal bebas seperti radikal hidroksil, superoksida, hidrogen peroksida, oksigen singlet, hipoklorit, radikal nitrogen oksida, dan peroksinitrit. Radikal bebas yang sangat reaktifinidapat memicu kerusakan biomolekuler, termasuk gangguanpada DNA, pembentukan sel abnormal, dan respon inflamasi (Yuqiong *et al*., 2022).

Ujiaktivitas penghambatantirosinase dariekstrakkasar dan senyawa hasil isolasidilakukanberdasarkanmetodeHearing(1987)danRangkadilok*etal*.(2006) denganbeberapamodifikasi. Enzimyangdigunakanadalahtirosinaseyangberasal darijamur,denganL-DOPAsebagaisubstratdanasamkojatsebagaikontrolpositif. Sebanyak 50 μLsampeldalampelarut DMSOdicampurkandengan100 μLenzim tirosinase (200 IU/mL) dan 100 μL buffer fosfat pH 6,8, kemudian campuran tersebutdiinkubasipadasuhu37°Cselama10menit.Setelahitu,ditambahkan100 μLlarutanL-DOPA(7,6mM)danreaksidiinkubasi

kembali selama 15 menit pada suhu yang sama. Pembentukan dopakrom diukur padapanjanggelombang475nmmenggunakanspektrofotometerUV-Vis.Sebagai pembanding, digunakan DMSO sebagai blanko dan buffer fosfat tanpa enzim tirosinase sebagai kontrol warna. Persentase penghambatan tirosinase dinyatakan sebagaipersentasepenghambatanaktivitastirosinasedandihitungsebagaiberikut:

$$\text{PenghambatanTirosinase}(\%)=\frac{(B-(A-C)}{B}X100\%$$

Asamkojikdigunakansebagaipenghambatstandaruntuktirosinase. Semuapengujiandilakukansecaratriplikat(Lukitaningsih&Holzgrabe,2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Lukitaningsih dan Holzgrabe (2014) memaparkan bahwa dari ekstrak etil asetat bengkuang *(Pachyrhizus erosus)* berhasil diisolasi beberapa senyawa bioaktif yang tergolong dalam kelompok flavonoid. Proses isolasi senyawa aktiftersebut dilakukan melalui fraksinasi yang dipandu oleh uji bioaktivitas (bioassay-guided fractionation) menggunakan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis (TLC) dengan reagen DPPH sebagai penanda aktivitas antioksidan. Fraksi-fraksi yang menunjukkan nilai Rf serupa dan memberikan respon positif terhadap reagen DPPH kemudian digabungkan dan dianalisis lebih lanjut untuk menilai aktivitas penghambatan enzim tirosinase dengan menggunakan tirosinase yang berasal dari jamur. Hasil pengujian menunjukkan bahwa beberapa fraksi yang aktif memiliki kemampuan ganda,yaitusebagaiantioksidansekaliguspenghambattirosinase,yang

mengindikasikan potensinya sebagai bahan pencerah kulit dalam formulasi kosmetik.Berdasarkanhasilkarakterisasispektroskopi LC-MS dan ^{1}HNMR, salah satusenyawautamamemilikirumusmolekul $C_{17}H_{12}O_4$ denganpuncakion $[M+H]^+$ pada m/z 281,3, serta menunjukkan pola proton aromatik khas sistem flavonoid dengan gugus hidroksi dan furan yang dikonfirmasi melalui korelasi COSY (Lukitaningsih & Holzgrabe, 2014).

MetodaUjiAktivitasInhibitorTirosinaseSecaraInVitro

Tirosinase merupakan enzim yang merubah substrat L-DOPA menjadi dopaquinonyangnantinyabeurubahmenjadimelanin.Denganmenghambatenzim tirosinase perubahan L-DOPA menjadi dopaquinon dapat dihambat dan pada tahapan berikutnya tidak terjadi pembentukan melanin. Inhibitor enzim tirosinase akan menghambat aktivitas enzim tirosinase tersebut sehingga LDOPA tidak berubah menjadi dopaquinon dan selanjutnya tidak terjadinya pembentukan melanin di dalam sel secara biologis di dalam tubuh. Prinsip kerja dari pengujian enzim tirosinase dengan melihat penurunan adsorban dari senyawa dopaquinon, yang nantinya menyerap sinar dengan panjang gelombang 490 nm (Fan, *et al*., 2021; Rasyad, *et al.*, 2016)

Uji penghambatan tirosinase didasarkan pada aktivitas katalitik enzim tirosinase yang mengubahtirosindenganbantuan oksigen menjadiL-DOPA, yang kemudiandioksidasilebihlanjutmenjadidopaquinondanmenghasilkanairsebagai produk samping. Selanjutnya, dopaquinon mengalami proses autooksidasi secara spontan sehingga terbentuk dopakrom, yaitu senyawa berwarna oranye hingga kemerahan.Pigmen tersebutmemiliki serapanmaksimum padapanjang

gelombang 475 nm. Ekstrak etil asetat menunjukkan hubungan yang kuat dan signifikan antara peningkatan konsentrasi dengan aktivitas penghambatan enzim tirosinase. Temuan ini mengindikasikanbahwa ekstraketilasetat buah bengkuang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pencerah kulit alami dalam formulasi kosmetik (Lukitaningsih & Holzgrabe, 2014).

Perbandingan potensi penghambatan enzim tirosinase dari berbagai senyawa isoflavonoid menunjukkan bahwa 5-hidroksi-daidzein-7-O-β-glukopiranosamemilikikemampuaninhibisitertinggi,diikutisecaraberurutanoleh 8,9-furanyl-pterocarpan-3-ol dan daidzein-7-O-β-glukopiranosa. Penurunan aktivitasdaridaidzeinketurunannyayangterikatglukopiranosildidugadisebabkan oleh adanya gugus glukopiranosil yang menimbulkan hambatan sterik terhadap interaksi dengan enzim. Enzim tirosinase sendiri memiliki situs aktif yang mengandung dua atom tembaga yang berikatan dengan residu histidin. Senyawa yang mengandung gugus fenol atau difenol mampu berinteraksi dengan ion tembaga melalui pembentukan kompleks khelat, sehingga menonaktifkan enzim tersebut secara ireversibel. Dalam hal ini, daidzein-7-O-β-glukopiranosa hanya memiliki satu gugus fenol aktif karena gugus fenol lainnya berikatan dengan molekul glukosa, sehingga interaksi dengan enzim menjadi lebih lemah dan aktivitas penghambatannya menurun (Lukitaningsih & Holzgrabe, 2014).

KelebihandanKekurangan MetodaUjiAktivitasInhibitorTirosinase Secara In Vitro

Metodeinvitrodalambidangmikrobiologimerupakanpendekatan eksperimentalyangdilakukandi luarorganismehidup,sepertipadamediakultur,

tabung reaksi, atau sistem bioreaktor dengan kondisi yang terkontrol. Metode ini banyakdigunakanuntukmempelajarimetabolismemikroba,interaksiantarspesies, serta respon mikroorganisme terhadap senyawa tertentu, baik dalam konteks penelitian dasar maupun aplikasi industri dan medis. Berdasarkan jurnal "Recent AdvancesinMicrobialInVitroMetabolismModelingandApplications"Frontiers in Microbiology (2018), metode ini memungkinkan peneliti melakukan pengamatan yang lebih spesifik terhadap perilaku dan aktivitas mikroba dengan meminimalkan pengaruh variabel lingkungan yang sulit dikontrol dalam kondisi alami (Van der Ark *et al*., 2018).

Kelebihanutamametodeinvitroterletakpadakemampuannyamemberikan kontrol eksperimen yang tinggi, karena semua parameter seperti pH, suhu, waktu inkubasi, serta komposisi nutriendapat diatur secara presisi. Selain itu, metode ini memiliki reproduksibilitas yang baik karena dilakukan dalam sistem tertutup, sehingga hasil penelitian dapat diulang dengan variasi yang minimal. Dari sisi efisiensi, uji in vitro relatif lebih cepat dan murah dibandingkan metode in vivo, menjadikannya alat penting untuk skrining awal aktivitas antimikroba atau identifikasi mikroorganisme. Pendekatan ini juga lebih etis, karena tidak memerlukan hewan percobaan, serta aman dan mudah dikombinasikan dengan teknik modern seperti metabolomik, genomik, dan pemodelan komputasi. Hal ini memungkinkan penelitian yang lebih mendalam mengenai aktivitas biokimia mikroba dan mekanisme interaksiantarspesiesdilingkungan yang terkontrol(Van der Ark *et al*., 2018).

Namun, metode in vitro juga memiliki sejumlah keterbatasan signifikan. Salahsatunyaadalahbahwasisteminitidaksepenuhnyamampumerepresentasikan kompleksitas interaksi biologis alami, seperti hubungan antar mikroba dengan jaringaninangataupengaruhsistemimun.Akibatnya,hasileksperimenseringkali tidak dapat diekstrapolasi langsung ke kondisi fisiologis nyata. Selain itu, banyak mikroorganisme yang tidak dapat tumbuh dikondisi kultur buatan, sehingga hasil identifikasi hanya mencakup sebagian kecil komunitas mikroba yang dapat dikultur. Dalam konteks metabolisme mikroba, dinamika populasi juga sering berubah akibat keterbatasan nutrien dan akumulasi produk metabolit, yang membuat modelinvitrosulitdigunakanuntukpengamatanjangkapanjang.Faktor fisiologis seperti aliran darah, distribusi oksigen, serta pengaruh imunologis juga tidak dapat disimulasikan secara akurat dalam sistem in vitro sederhana (Van der Ark *et al*., 2018).

Dengan demikian, meskipun metode in vitro memberikan banyak keuntungan dalam hal efisiensi, kontrol, dan etika penelitian, hasil yang diperoleh tetap perlu divalidasi menggunakan pendekatan in vivo atau data lapangan untuk memastikan relevansinya terhadap kondisi biologis nyata. Oleh karena itu, jurnal ini merekomendasikan agar metode in vitro digunakan secara komplementer dengan model komputasi dan pendekatan multi-omik agar dapat memberikan gambaran menyeluruhtentang metabolisme danperilaku mikroba (Vander Ark *et al.*, 2018).

BAB III

METODOLOGIPENELITIAN

LokasiPenelitian

PenelitianinidilakukandaribulanOktober2025sampaidenganbulanMaret 2026 di Labolatorium Mikrobiologi Prodi Farmasi Universitas Dharma Andalas Padang dan Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas.

MetodePenelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur (Iwaki®), gelas beaker (Iwaki®), Erlenmeyer (Pyrex®), tabung reaksi (Iwaki®), rak tabung reaksi, cawan Petri (Normax®),kapas,kainkassa,benang,plastikwrap(Totalwrap®),lampuspiritus, jarum ose, mistar, pinset, mikropipet (Toppette Pippetor®), tips micropipet, inkubator (Memmert®), Laminar Air Flow (LAF) Cabinet (Innotech-Biobase®), vortex(Velp®),timbangananalitik(Kern®),autoklaf(AllAmerican®),alat rotary evaporator (IndolabUtama®), desikator (Normax®), spatel, aluminiumfoil (Total Wrap®), botol infus 500 ml, pisau cutter, cotton swab (Onemed®), Microplate (Nest®).

Bahan

Bengkuang *(Pachyrhizus erosu*s), enzim tyrosine 6540 IU/mg (Merck®), media pertumbuhan jamur *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (Himedia®), kapsul kloramfenikol,beras3Kg,L-DOPA(Merck®),dimethylsulfoksida(DMSO) (Merck®),asamkojat(Merck®),aquadeststeril(Teknis),pelarutetilasetat

(Teknis),bufferfosfatpH6,8(Merck®),larutanlactophenol(Merck®),dan alcohol 70% (Teknis).

PengambilanSampel

Sampel berupa umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dipanen dari daerah LubukAlung,KabupatenPadangPariaman,SumateraBarat.Setelahdipanen,umbi dibersihkan secara manual dan kemudian diamati karakter morfologisnya yang meliputi bentuk umbi, warna kulit, tekstur daging umbi, dan bau khas.Proses identifikasi dilakukan dengan membandingkan ciri-ciri tersebut dengan deskripsi spesies dalam literatur botani untuk memastikan keakuratan penentuan spesies. Sampel *Pachyrhizus erosus* yang telah diambil kemudian diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Universitas Andalas (ANDA) jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas Padang.

SterilisasiAlat

Alatyangdigunakandipastikansudahdalamkeadaanbersihdankering.Alat gelas dibungkus, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilisasi pada suhu 121^0C dantekanan 1 atmselama 15 menit. Untuk alat-alat yang terbuat dari logamsepertijarumosedanpinsetdisterilisasipadanyalaapispiritus.LaminarAir Flow (LAF) disterilisasi menggunakan alkohol 70% lalu dihidupkan lampu UV selama 10 menit sebelum digunakan (Brooks *et al*., 2007).

3.3.5SterilisasiPermukaanSampel

Setiap bagian umbi bengkuang dibersihkan satu-persatu menggunakan air mengaliruntukmenghilangkankotoran.Selanjutnyamasing-masingbagiansampel direndam dalam etanol 70% selama 1 menit. Setelah itu, sampel dibilas dengan aquadest sterilselama2 menit. Air bilasanterakhir dimasukkankedalamplat agar SDA sebagai kontrol negatif (Silva et al., 2015).

IsolasiJamurEndofitdariUmbiBengkuang

1. PembuatanMediaSabouraudDextroseAgar(SDA)

Ditimbang 16,25 gr serbuk SDA (Himedia®), kemudian dilarutkan dalam 500 mL aquadest sambil dipanaskan dengan hotplate hingga larut, kloramfenikol ditambahkan ke dalam media sebanyak 0,02 g/Luntuk menekan pertumbuhan bakteri. Mulut Erlenmeyer ditutup dengan kapas yang sudah dibalut dengan kain kassa, kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121ºC dan tekanan 1 atm (Naim, 2016).

2. Metode Tanam

Masing-masing bagian sampel yang telah disterilisasi, kemudian dipotong kecil-kecil berbentuk persegi dengan ukuran 1×1 cm. Selanjutnya, potongan dari sampel tersebut diinokulasikan pada media SDA dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 hari (Kjer et al., 2010).

3. Metode Tuang

Sampel umbi benguang yang sudah disterilisasi dipotong dan dihaluskan, sebanyak 1 g sampel ditimbang dan ditambahkan 10 mL aquadest steril, menjadi pengenceran 10^{-1}. Suspensi sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan induk. Kemudian 1 mL larutan induk dimasukkan ke dalam tabung reaksi yangberisi9mLaquadeststeril,laludivortex.Prosesyangsamadilakukanhingga didapat konsentrasi10^{-6}. Hasildaripengenceran10^{-6} dituangkedalammediaSDA dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 7 hari. Setiap pengerjaan dilakukan secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF) (Handayani et al., 2018).

3.3.7PemurnianJamurEndofit

Pemurniandilakukandengancaramengambilsebagiankecilisolatjamuryang tumbuh diatas media SDA menggunakan spatel dan dipindahkan ke dalam media SDA baru. Kultur murniinikemudiandiinkubasi pada 25°C selama 7 hari. Proses pemurnian dilakukan berulang berdasarkan perbedaan makroskopis, seperti warna danbentukdarijamur hinggadiperolehisolat murni.Setiap isolat murnikemudian diduplikasi menjadi kultur kerja (*working culture*) dan kultur stok (*stock culture*). Kultur stok diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 hari, kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Suhartina et al., 2018).

Karakterisasi makroskopisdilakukandengan mengamatipermukaankoloni, warna, tekstur, bentuk tepian, serta tampilan bagian bawah koloni. Karakterisasi mikroskopisdilakukandengan mengambilsedikitmiseliummenggunakan jarumose,

kemudianditeteskanlarutanLactophenolCottonBluepadakacaobjek,fiksasidiatas nyalaapi.Preparatdiamatimenggunakanmikroskopcahayauntukmengidentifikasi cirimorfologisepertibentukdanpercabanganhifa,strukturkonidiofor,bentukserta susunan konidia atau spora, dan struktur reproduktif lainnya yang menjadi ciri spesifik genus maupunspesies jamur (Suhartina *et al*., 2018).

KultivasiJamurEndofitUmbiBengkuang

1. PembuatanMediaBeras

Sebanyak 50 gr beras dimasukkan ke dalam botol infus 500 mL, kemudian ditambahkan 65 mL aquadest steril dan direndam selama 1 malam, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121˚C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Kjer *et al*., 2010).

2. KultivasiJamurEndofit

Jamur murni yang telah diremajakan, dipotong, dan dipindahkan ke dalam media beras. Dinkubasi pada suhu 25℃ selama 2 minggu sambil diamati pertumbuhan jamur tersebut (Kjer *et al*., 2010).

EkstraksiIsolatJamurEndofitUmbiBengkuang

Kultur dari masing-masing isolat, selanjutnya dimaserasi dengan etil asetat sebanyak 100 mL hingga seluruh biomasa terendam selama 3 hari, sambil diaduk sesekali.Selanjutnya,maseratjamurdisaringdarimediakulturmenggunakankertas saringdancoronguntukmemisahkanfiltrat(maserat)dariresidu.Residukemudian dimaserasikembalidenganpelarutyangsamasebanyak2–3kaliuntukmemastikan senyawametabolitterambilsecaramaksimal.Pelarutetilasetatkemudiandiuapkan

menggunakanrotaryevaporatorhinggadiperoleh filtratekstrakkentaletilasetat dari isolatjamurendofit.Ekstrakyangdiperolehkemudiandisimpanpadavialgelapdan ditempatkanpada suhu 4°Cuntuktahapanujiselanjutnya (Kjer *et al*., 2010).

UjiAktivitasEnzimTirosinaseSecaraInVitro

Pengujian aktivitas enzim tirosinase dilakukan dengan menggunakan metoda yang dikembangkanoleh Wijaya, *et al*(2018).

1. PersiapanBufferPhosphat0,05MpH 6,5

Sebanyak 250 mlBuffer Phosphate 0,1 MpH6,8dimasukkanke dalam labu ukur 500 ml, kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda batas, kemudian dihomogenkandanpHdiaturpHhingga6,5denganmenambahkanasamphosphate.

2. PembuatanlarutanDMSO1%dalamBufferPhosphate

Sebanyak 1 mL DMSOdimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan Buffer Phosphate 0,05M pH 6,5 sampai tanda batas dan dihomogenkan

3. PersiapanSampel

Sampelditimbang masing-masingsebanyak25 mg didalamlabuukur10 ml, kemudian dilarutkan dg DMSO 100 uL, sampai homogen, kemudian cukupkan volumedenganmenambahkanBufferPhosphate0,05Mhinggatandabatas(larutan 2500ppm).MasukkankesumurA800uLdanmasing2kesumurB sampaiH,500uLlarutanDMSO1%dalambuffer.Lakukanpengencerandengan

menambahkan 200 uL larutan induk ke sumur A dan lakukan pengenceran bertingkat ke bawah dengan mengambil 500 uL darisumur sebelumnya ke sumur setelahnyasehinggadidapatkanserialkonsentrasi500;250;125;62,5;31,25; 15,625;7,6(7tingkatankonsentrasi).

4. PersiapanPembanding

Sebanyak 10 mg asam kojat ditimbang didalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkandenganlarutanDMSO1%dalambufferhinggatandabatas(larutan1000 ppm),selanjutnyadimasukkankesumurA900uLdanmasing-masingkesumurB sampai H, 500 uL larutan DMSO 1% dalam buffer, selanjutnyadilakukan pengencerandengan menambahkan100 uL larutan induk ke sumur Adan lakukan pengenceran bertingkat ke bawah dengan mengambil 500 uL dari sumur sebelumnya ke sumur setelahnya sehingga didapatkan serial konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5 ppm (7 tingkatan konsentrasi)

5. PersiapanSubstratL-Dopa5,07mM

Sebanyak 50 mg L-DOPA ditimbang didalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan buffer hingga tanda batas dan dihomogenkan

6. PersiapanEnzimtyrosinase250 U/mL

Sebanyak 2,5 mg enzim tyrosinase ditimbang didalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan dengan buffer hingga tanda batas.

Prosedurselanjutnyamasing-masingsampeldibuatdalamberbagaikonsentrasi menggunakanpelarut DMSO1%dalamdapar fosfat(0,05M,pH6,5).Asamkojat digunakansebagaipembanding.Pengujiandilakukanpadamicroplate96well.50μL sampelataupembandingdimasukkankedalamlubangmicroplate,kemudian

ditambahkan20 μL enzim 250 U/mL, kemudianditambahkan30 μL buffer fosfat, diinkubasidisuhuruangselama5menit kemudianditambahkan100μLsubstratL-DOPA, diinkubasi di suhu ruang 30 menit dan absorban diukur pada panjang gelombang 492 nm.

Sebagai kontrol sampel masing-masing ekstrak ditambahkan sesuai denganbahandiatas,tanpaenzimtirosinase(digantidenganbufferfosfat).Sebagai blanko digunakan bahan diatas kecuali sampel (diganti dengan DMSO1% dalam dapar fosfat).Absorban yang diperoleh pada masing-masing pengenceran sampel dicatat. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

AnalisisData

Data disajikan dalam bentuk tabel yang menghubungkan jenis sampel konsentrasifinaldarireaksidanpresentase inhibisi. Presentase inhibisiinidihitung dengan rumus berikut :

$$Penghambatan Tirosinase\ (\%) = \frac{(\mathrm{A}-\mathrm{B})-(\mathrm{C}-\mathrm{D})}{(A-B)} x100$$

Data yang diperoleh kemudian di plot dalam grafik linear untuk menentukan nilai persamaan regresinya. Nilai IC_{50} diperoleh dari x sebagai log konsentrasisertaysebagainilaiprobitpresentaseinhibisi.menggunakanpersamaan regresi dimana nilai y = 5. Kemudian nilai xdikonversi kembali ke persamaan 10^x=IC_{50}.Aktivitas inhibitorenzimtirosinase yang diperolehberupanilaiIC_{50} dari

masing-masing sampel, kemudian dibandingkan dengan nilaiIC_{50}yang diperoleh pada pengujian pembanding (Wijaya *et al*., 2018).

BABIV

HASILDANPEMBAHASAN

HasilPenelitian

Dari penelitian "Skrining Aktivitas Inhibitor Emzim Tirosinase dari Isolat JamurEndofitBuahBengkuang(*Pachyrhizuserosus*)SebagaiKandidatWhitening Agent" diperoleh hasil sebagai berikut:

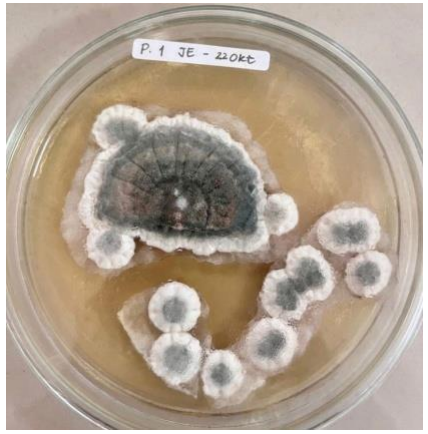
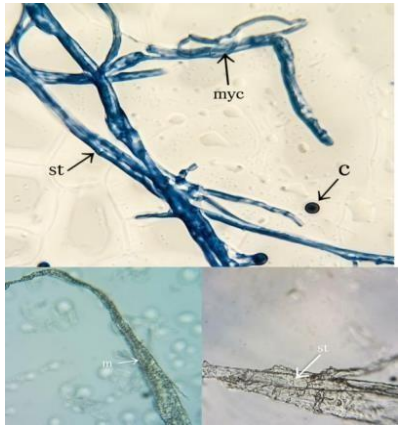
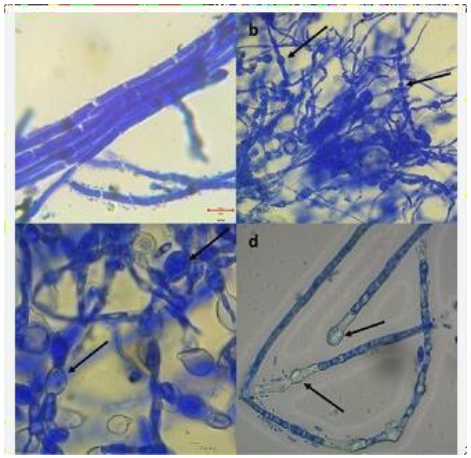
HasilIdentifikasiSampelTumbuhan

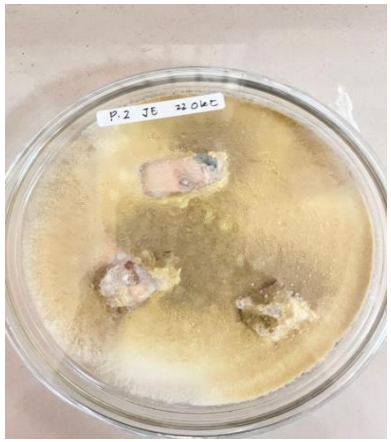
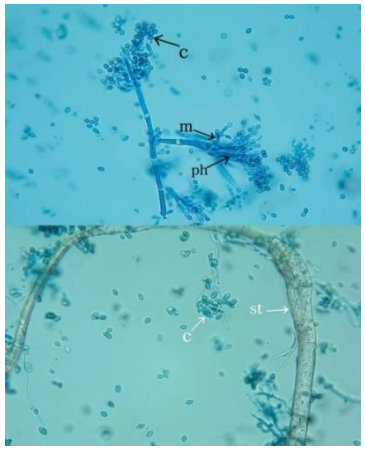
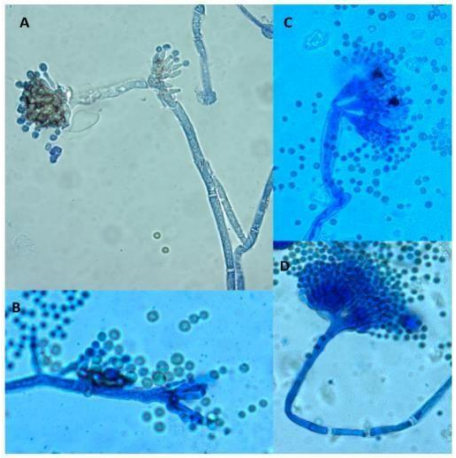
Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*), yang termasuk ke dalam famili *Fabaceae*. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 2 Gambar 1.

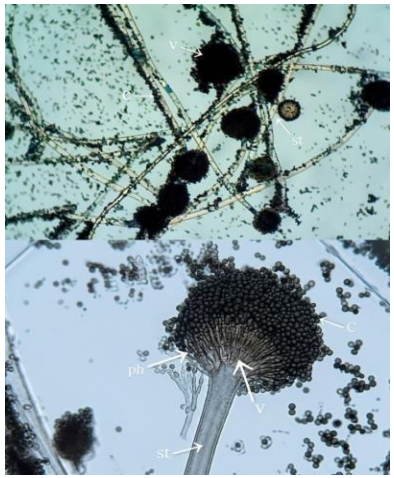
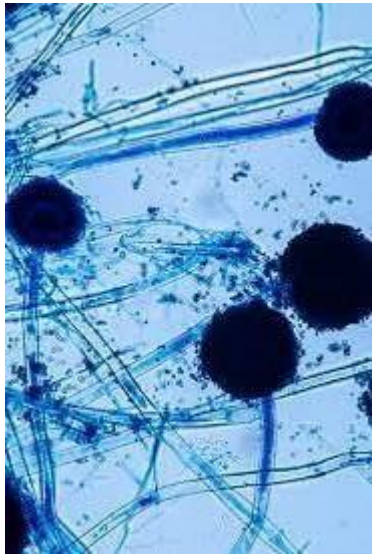
HasilIsolasi JamurEndofit

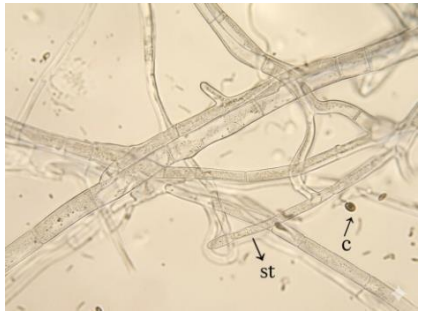
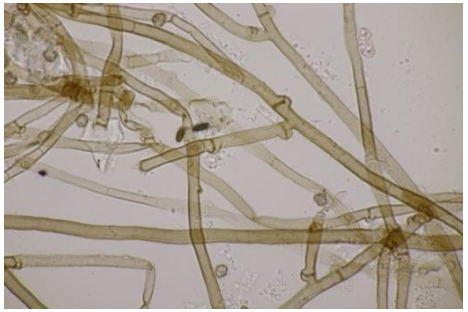
Dalam penelitian ini, diperoleh 5 isolat murni jamur endofit, yaitu empat isolat berasaldari metodetanam(PE1, PE2, PE4 dan PE5), dan satu isolat berasal dari metode tuang (PE3) yang ditampilkan pada Tabel 4.1

Tabel3.KarakteristikMakroskopisdanMikroskopisJamur EndofitTumbuhan*Pachyrhizuserosus*

No	Jenis Isolat	GambarPengamatan Makroskopis	GambarPengamatan Mikroskopis	Rujukan GambarMikroskopis	Keterangan
1.	PE1			 Sumber : Deacon(2006)	Makroskopis: Tekstur : Kapas Warna : Hijau dengan Tepian Putih Tepian : Bergelombang Bulatan konsentris:Tidak Terlihat Mikroskopis: St (Septa): Bersepta (memilikisekat) C (Konidia) : Jenis konidia Aseksual, *Sporangiospora*

No	Jenis Isolat	GambarPengamatan Makroskopis	GambarPengamatan Mikroskopis	Rujukan GambarMikroskopis	Keterangan
2.	PE2			 Sumber : Deacon(2006)	Makroskopis : Tekstur:Beludru Warna : Kuning Tepian : Rata Bulatan konsentris: Terlihat Mikroskopis : Myc(miselium): Memanjang dan bercabang St (Septa): Bersepta (memilikisekat) C(Konidia): Jeniskonidia Seksual, *conidiofor*

No	Jenis Isolat	GambarPengamatan Makroskopis	GambarPengamatan Mikroskopis	Rujukan GambarMikroskopis	Keterangan
3.	PE3			 Sumber : Deacon(2006)	Makroskopis: Tekstur:Granul Warna : Hitam Kecoklatan dengan Tepian Putih Tepian : Bulat Bulatan konsentris:Terlihat Mikroskopis: V (vesikel) : Bagian ujung membentuk bulatanbesar St (Septa): Bersepta (memilikisekat) C (Konidia) : Jenis konidia Aseksual, *Conidiospora* (*Aspergillusniger)*

No	Jenis Isolat	GambarPengamatan Makroskopis	GambarPengamatan Mikroskopis	Rujukan GambarMikroskopis	Keterangan
4.	PE4			 Sumber : Deacon(2006)	Makroskopis : Tekstur:Berlendir Warna : Coklat Muda Tepian:Tidak Rata Bulatan konsentris:Tidak Terlihat Mikroskopis: St (Septa): Bersepta (memilikisekat) C (Konidia) : Jenis konidia Aseksual, *Sporangiospora*

No	Jenis Isolat	GambarPengamatan Makroskopis	GambarPengamatan Mikroskopis	Rujukan GambarMikroskopis	Keterangan
5.	PE5			 Sumber : Deacon(2006)	Makroskopis : Tekstur : Berbulu Warna : Putih Tepian:Berfilamen Bulatan konsentris:Terlihat Mikroskopis: St (Septa): Bersepta (memilikisekat) C (Konidia) : Jenis konidia Seksual, *sporangospora*

4.1.4. HasilAnalisisAktivitasInhibitorEnzimTyrosinaseSampelUji

Hasil Analisis aktivitas inhibitor enzim tyrosinase dari sampel uji, dinyatakandalamnilaiIC_{50}(ppm).Nilai%potensiasidinyatakandalam%terhadap pembanding yang digunakan. Hasil analisis disajikan sebagai berikut:

Tabel4. HasilAnalisis AktivitasInhibitorEnzimTyrosinaseSampelUji

SampelUji	**AktivitasInhibisi**	
	IC_{50}(ppm)	**Potensiasi TerhadapAsam Kojat (%)**
PE1	1147,790	0,372
PE2	28,490	15,000
PE3	20,310	21,041
PE4	1926,733	0,222
PE5	31,428	13,598
AsamKojat	4,273	-

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji skrining aktivitas inhibitor enzim tirosinase dari isolasi jamur endofit buah bengkuang. Sampel penelitian diperoleh dari Ketaping, Padang Pariaman, Sumatera Barat. Bahan uji berupa Bengkuang(*Pachyrhizuserosus*)yangbarudipanen.Pemilihansampelsegarserta bagian tanaman yang digunakan didasarkan pada kebiasaan konsumsi masyarakat sebagai buah, sehingga peneliti ingin mengevaluasi potensi tambahan manfaatnyasebagaipencerahkulitalami.

Seluruh sampel kemudian diidentifikasi di Herbarium ANDA, Universitas Andalas.Prosesidentifikasiinidilakukanuntukmemastikankeasliandanketepatan jenissimplisiayangdigunakan.Selanjutnya,dilakukanprosessterilisasipermukaan *PachyrhizuserosusL.*,yangbertujuanuntukmenghilangkanmikroorganismeepifit atau jamur kontaminan yang menempelpada permukaanumbibengkuang. Tujuan utama darterilisasi ini adalah memastikan bahwa jamur yang berhasil diisolasi merupakan jamur endofit sejati, yaitu jamur yang benar benar hidup di dalam jaringanumbibengkuang, bukanberasaldaripermukaanumbibengkuang(Anizah & Sjakoer, 2022).

Proses inidilakukan dengan membersihkan umbi bengkuang dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan mikroba permukaan. Tahap sterilisasi dilakukandenganmerendamumbibengkuangkedalametanol70%selama1menit, alasan digunakan etanol 70% karena etanol lebih efektif untuk membunuh bakteri ataumikroorganismepadakonsentrasi70%daripadakonsentrasiyanglebihtinggi Fitriana(2017).Selanjutnya,umbibengkuangdibilasmenggunakanaquadeststeril untuk menghilangkan sisa bahan kimia (Ezeobiora *et al.*, 2021).

Air bilasan terakhir dari sterilisasi permukaan sampel tersebut digunakan sebagai kontrol negatif. Tujuan utama dari penggunaan kontrol negatif untuk memastikan bahwa proses sterilisasi permukaan jaringan tanaman telah berjalan dengan baik. Hal ini dilakukan dengan menanam air bilasan terakhir ke dalam media untuk melihat apakah masih ada mikroba yang tersisa. Jika tidak ada pertumbuhanjamur ataubakteripada media tersebut setelah inkubasi, maka dapat

dipastikan bahwa permukaan jaringan sudah benar-benar bersih dari kontaminan. Dengan begitu, jamur yang tumbuh dari jaringan tanaman setelah proses isolasi dapat dipastikan berasal dari dalam jaringan (endofit), bukan dari luar atau hasil kontaminasi. Namun, jika ada pertumbuhan jamur atau mikroba pada kontrol negatif mengindikasikan bahwa proses sterilisasi permukaan belum optimal, sehinggakemungkinan masihterdapat mikroorganisme dariluar jaringan. Kondisi inimenyebabkanisolat yangdiperolehtidakdapat dipastikansebagaijamur ndofit sejati. Oleh karena itu, isolasiperlu diulang untuk memastikan kemurniansampel. Penggunaan kontrolnegatif menjadi langkah penting dalam menjaga validitas dan keandalan hasil isolasi, agar hanya jamur yang benar-benar berasal dari dalam jaringan tanaman yang dianalisis lebih lanjut (Saad *et al.*, 2019).

Setelah proses sterilisasi permukaan sampel selesai dilakukan, dilanjutkan dengan isolasi jamur endofit menggunkan dua metode, yaitu metode tanam langsung dan metode tuang. Pada metode tanam, potongan umbi bengkuang yang telah disterilkan diletakkan langsung di atas permukaan media kultur jamur. Sementara itu, metode tuang diawali dengan memotong umbi bengkuang menjadi bagian-bagian kecil, kemudian digerus dalam lumpang hingga halus, lalu ditambahkan 10 mL aquadest steril untuk menghasilkan suspensi. Suspensi ini selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan digunakan sebagai larutan induk dan kemudian dilakukan pengenceran. Pengenceran bertingkat dilakukan untukmengurangijumlahjamurendofitdalamsampel,sehinggakoloniyang

tumbuh pada media tidak terlalu padat. Hal ini bertujuan agar proses pengamatan jamur endofit dapat dilakukan dengan lebih jelas dan akurat (Garre *et al.*, 2019).

Hasildaripengenceranterakhirtersebutkemudiandituangkedalamcawan berisi media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan diinkubasi pada suhu ruang, sekitar25°C,selama7hari.MediaSDAdipilihkarenamemilikitingkat keasaman (pH) yang relatif rendah, sehingga mampu menciptakan kondisi lingkungan yang optimal untuk mendukung pertumbuhan jamur. Selain itu, agar lebih selektif terhadapjamurdanmencegahpertumbuhanbakteri,mediaSDAjugaditambahkan antibiotik seperti kloramfenikol (Sophia *et al*., 2022).

Setelahjamurendofitberhasiltumbuhpadamediakultur,tahapidentifikasi dilakukan dengan mengamati makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik mencakup berbagai ciri koloni jamur, seperti warna permukaan dan bagian bawah koloni, tekstur koloni, keberadaan tetesan eksudat, ukuran diameter pertumbuhan koloni, serta adanya pola pertumbuhan konsentris. Apabila selama prosespengamatanmasihditemukankolonijamurdenganmorfologiyangberbeda, maka isolasiperlu diulanguntuk memisahkankontaminanataukolonilain, hingga diperoleh satu jenis isolat yang homogen dan murni. Pengamatan mikroskopis dilakukanuntuk mengetahuikarakteristikstrukturinternal jamur yang tidak dapat dilihat secara makroskopis. Melalui pengamatan ini, dapat diamati secara detail bagian-bagianpentingsepertihifa,miselium,strukturpembentukspora(konidiofor atau sporangiofor), bentuk dan susunan spora, serta struktur khas lainnya seperti vesikel,fialid, metula, rhizoid,

danstolon.Karakter-karaktertersebutdigunakansebagaidasardalammembedakan genus maupun spesies jamur. (Kandou & Singkoh, 2018).

Pemurnian jamur endofit merupakan langkah penting dalam proses isolasi mikroba, yang bertujuanuntuk mendapatkansatu jenis jamur dalam bentuk kultur murni. Tahapan ini dilakukan setelah koloni jamur tumbuh pada media selektif, dengan cara memindahkan satu koloni tunggal ke media baru. Proses ini berguna untuk menghilangkankemungkinanadanya kontaminasidarimikroorganisme lain yang mungkin tumbuh bersamaan (Lu *et al.,* 2023). Setelah dilakukan pemurnian jamur endofit selanjutnya dilakukan peremajaan. Peremajaan jamur endofit yaitu, prosesmenghidupkankembalikulturjamurdariolonimudayangmasihsehatuntuk menjaga kualitas dan kestabilannya. Kultur yang tidak diremajakan dapat mengalami penurunan kemampuan tumbuh dan produksi senyawa penting seperti antimikrobaatauantioksidan.Denganperemajaan,jamurtetapstabilsecaragenetik danfisiologis,sehingga hasilpenelitianlebihakurat dandapat diulang(Adeleke& Babalola 2021).

Jamur endofit yang telah diremajakan kemudian disimpan sebagai kultur stok dan kultur kerja. Dalam pemeliharaan jamur endofit di laboratorium, pemisahan antara kultur stok dan kultur kerja merupakan langkah penting untuk menjaga stabilitas dan kemurnian isolat. Kultur stok yaitu simpanan utama yang disimpan dalam kondisi optimal dan dalam jangka waktu yang lama sedangkan, Kultur kerja digunakan secara rutin dalam kegiatan laboratorium, seperti untuk pengujianaktivitasbiologisataupenanamanulangsetiaphari.Dengan

memisahkankulturkerjadarikulturstok,risikoterjadinyaperubahansifatgenetik, bentuk jamur, atau penurunan kemampuan menghasilkan senyawa aktif akibat penanaman berulang bisa dikurangi (Kitamoto *et al*., 2002). Pada kultur stok digunakan gliserin yang berfungsi menghambat pertumbuhan jamur endofit sehingga jamur dapat disimpan dalam waktu yang lama.

Hasil isolasi jamur endofit dari umbi bengkuang menghasilkan lima isolat murni yang menunjukkan perbedaan karakteristik secara makroskopik. Masing-masing isolat kemudian diberi kode sebagaiPE1, PE2, PE3, PE4 dan PE5. Empat isolat,yaituPE1, PE2,PE3danPE4, berhasildiisolasimenggunakanmetodetanam, sedangkan satu isolat lainnya, yaitu PE5, diperoleh melalui metode tuang. Setiap isolat memiliki tampilan koloni yang berbeda, baik dari segi warna, bentuk permukaan, hingga pertumbuhan koloni Tabel 3.

Hasil isolasi jamur endofit buah bengkuang yang telah didapat lima isolat murni selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop okuler dengan perbesaran 100x. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis terhadap isolat jamur PE1, PE2, PE3, PE4 dan PE5, diperoleh karakteristik morfologi berupa struktur hifa dan alat reproduksi aseksual yang menunjukkan perbedaan, termasuk dari segi warna konidia (Watanabe, 2010).

isolat PE1 dan PE2, PE4 dan PE5 menunjukkan karakteristik yang serupa, yaitu hifa bersepta, hialin, dan bercabang dengan perkembangan miselium yang jelas.Konidiatampakberbentukbulathinggaovaldantersebardisekitarhifa.Dari segiwarna,konidiapadakeempatisolatinitampakhialinhinggasedikit kehijauanpucat,tidakmenunjukkanpigmengelapsepertipadaPE3.Tidak

ditemukannyavesikelpadaujungkonidioforsertawarnakonidiayangrelatifterang menguatkanbahwaisolatPE1,PE2,PE4danPE5kemungkinantermasukkedalam genus *Penicillium*.

Pada isolat PE3, terlihat hifa bersepta (*septate hyphae*) yang menopang konidiofor dengan ujung membentuk vesikel bulat. Dari vesikel tersebut muncul strukturpenghasilsporayangtersusunsecararadialdanmenghasilkankonidiayang tampakberwarnahitampekat.Konidiaberbentuk*globose*(bulat)dantersusunrapat membentuk kepala konidia (*conidial head*). Berdasarkancirimorfologidanwarna tersebut, isolat PE3 diidentifikasi termasuk ke dalam genus *Aspergillus*, dengan kemungkinan mendekati spesies *Aspergillus niger* yang dikenal memiliki konidia berwarna hitam (Watanabe, 2010).

Selanjutnya, isolat jamur endofit yang sudah murni dilakukan kultivasi dengan menggunakan media beras. Pemilihan media beras karena beras menyediakan sumber karbon yang baik, yang mendukung biosintesis metabolit sekunder oleh jamur. Masa inkubasi berlangsung selama 4 minggu dengan suhu 27^{o}C, yang bertujuan untuk memastikan produksi senyawa aktif dalam jumlah optimal. Periode inkubasi yang tepat sangat penting karena produksi metabolit bioaktif iasanya mencapai puncaknya saat jamur memasuki fase pertumbuhan stasioner.Ada beberapa faktoryang mempengaruhipertumbuhanmikroorganisme dalam media fermentasi diantaranya, bahan-bahan nutrisi yang terkandung dalam substrat, kadar air, ph dan suhu pertumbuhan (Kjer *et al.*, 2010).

Setelah proses kultivasi selesai, selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini merupakan teknik ekstraksi yang dilakukandenganmerendamsampeldalampelarutorganikselama3hingga5hari, disertai pengadukan. Maserasi dipilih karena prosedurnya sederhana, tidak memerlukan peralatan yang kompleks, serta dapat dilakukan pada suhu ruang, sehingga sangat sesuai untuk tahap awal eksplorasi metabolit sekunder dari hasil kultivasi jamur endofit. Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah etil asetat, karena sifat semi-polarnya memungkinkan pelarutan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang ketiganya diketahui memiliki potensisebagaiagenantibakteri.Selainitu,etilasetattergolongpelarutyangrelatif tidak toksik dan telah banyak digunakan dalam proses isolasi metabolit sekunder dari jamur. Selama proses maserasi, larutan diaduk secara berkala untuk meningkatkan efektivitas penetrasi pelarut ke dalam struktur sel jamur, sehingga senyawa aktif dapat terekstraksi dengan lebih optimal (Firdaus *et al*., 2024).

Setelah maserasi selesai, maserat yang didapatkan dilakukan penyaringan untuk memisahkannyadariresidu. Kemudianmaserat yang bebas residudiuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental etil asetat isolat jamur endofit. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi rendeman saat proses ektraksi salah satunya yaitu, kenaikan suhu dapat mempercepat laju perpindahan massa suatu senyawa, karena suhu tinggi berpengaruh terhadap meningkatnya permeabilitas membran sel. Hal ini memungkinkan pelarut lebih mudahmasukkedalam jaringan danmelarutkansenyawabioaktif di dalamnya,

sehingga jumlahekstrakyang diperoleh(rendeman) menjadilebih besar (Artini*et al.*, 2022).

Selanjutnyadilakukanpengujiansecarain-vitroterhadapaktivitasinhibitor enzim tirosinase. Semua ekstrak kental kemudian dibuat larutan induk dengan konsentrasi 2.500 ppm dengan DMSO sebagai pelarut untuk pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase, DMSO digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Pembanding (asamkojat)dilarutkandenganDMSO1%dalamdaparfosfatyangbersifat mudah larutdalamair.Alasanmenggunakandaparfosfatsebagaipelarutasamkojatadalah untukmenjaga lingkunganpHpadasaat pengujiankarenaenzim mudahrusakdan inaktif jika pH tidak sesuai yaitu pH 6,9.

Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat pada konsentrasi 125.000, 62.500, 31.250, 15.625; 7.813: 3.906; 1.953 ppm menggunakan campuran dapar fosfat dan DMSO dengan perbandingan 7:1 (DMSO 10%). Pemilihan campuran pelarut ini didasarkan pada sifat ekstrak etanol yang kurang larut dalam dapar fosfiat, sementara penggunaan DMSO 100% tidak memungkinkan karena dapat merusak enzim (Suwandi, 2009). Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan berbagai variasi konsenrasi sampel, sehingga dapat mentukan konsentrasi mana yang memiliki aktivitas terbaik, hal ini juga bertujuan agar hasil pengukuran absorban berada dalam rentang yang dapat dianalisis dengan baik menggunakan microplate reader (Dharma et al., 2020).

Microplate reader bekerja dengan mengukur fluoresensi atau absorbansi cahaya yang melewati sampel, dimana reflektansi, serapan dan warna digunakan untuk mengidentifikasisertamengukur jumlahzat (Berg et al., 2015). Pengukuran ini digunakan untuk menentukan absorban dari parameter uji enzim, yang selanjutnyadiolahmenjadinilaipersentaseinhibisikerjaenzimkemudiannilaiIC_{50}dihitung. IC_{50}merupakan konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim, dimana semakinkecil nilaiIC_{50}yang diperoleh, semakinkuat kemampuan ekstrak dalam menghambat kerja enzim (Analda et al., 2019).

Pengujian aktivitas enzim tirosinase dilakukan dengan menggunakan metodayang dikembangkanoleh(Wijaya, *et al*., 2018). Prosedur selanjutnya masing-masing sampel dibuat dalam berbagai konsentrasi menggunakan pelarut DMSO 1,25% dalam dapar fosfat (0,1 M, pH 6,8). Asam kojat digunakan sebagai pembanding. Pengujian dilakukan pada microplate 96 well. 40 μL sampel dimasukkankedalamlubangmicroplate,kemudianditambahkan80μLdaparfosfat kemudianditambahkan40μLsubstratL-DOPA(20mmol),kemudianditambahkan 40 μL enzim tirosinase (30 IU/mL). Campuran selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dalam suhu37^{o}C dan absorban diukur pada panjang gelombang 492 nm.

Kontrol sampel diperlukan untuk memastikan absorbansi yang terjadi disebabkanolehakivitasenzimbukanfaktorlainsepertisubstratterhidrolisissecara spontan.Blankoberfungsiuntukmemastikanperubahanwarnaatauabsorbasiyang terjadi hanya berasal dari reaksi substrat dan enzim. Sedangkan kontrol blanko berfungsi untuk mengetahui absorbansi reagen tanpa adanya reaksi

enzimatik.Warnacoklatmudahinggatidakbewarnamenunjukkanadanyaaktivitas inhibitor enzim tirosinase, sedangkan warna coklat tua menunjukan tidak adanya aktivitas inhibitor enzimtirosinase. Jika ada aktivitas inhibitor dariekstrak sampel maka akan memberikan kompleks warna coklat muda karena ekstrak tidak terhidrolisis oleh enzim tirosinase (P et al., 2011).

Berdasarkanhasilpenelitian,diketahuibahwadarikelimaekstrakisolatjamur endofit bengkuang yang diuji, ekstrak PE2, PE3 dan PE5 memilikiaktivitas inhibitorterhadapenzimtyrosinasetertinggidariekstrakPE3dengan$IC_{50,}$ekstrak PE2 denganIC_{50}20,310 ppmdanekstrak PE5 denganIC_{50}31,428 ppm. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan Varun et al. (2022), ekstrak daribuahbengkuangmenunjukkanaktivitaspenghambatanenzimtirosinaseyang ditandai dengan nilai IC_{50}, dilaporkan memiliki berbagai senyawa bioaktif, khususnya golongan flavonoid dan fenolik, yang berperan dalam aktivitas antioksidandanpenghambatanenzimtirosinase.Dalamjurnaltersebut dijelaskan bahwaekstrak umbi bengkuang menunjukkanaktivitas inhibisitirosinase melalui uji pembentukan dopakrom, yang berkaitan dengan kemampuan senyawa aktif dalam menghambat oksidasi tirosin menjadi melanin. Aktivitas ini umumnya dinyatakan dalam nilai IC_{50}, di mana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat daya inhibisinya. Jamur endofit yang hidup dalam jaringan bengkuang diduga mampu menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan tanaman inangnya, sehinggaberkontribusiterhadapaktivitaspenghambatantirosinaseyangdiamati. Halinimembutuhkanpenelitianlebih lanjutuntukmengetahuikandungankimiayangberperansebagaiinteraksi

dengan enzim tirosin dan menyelidiki profiling metabolit atau bioautografi. Dengan demikian, hasil penelitian ini memperkuat bahwa baik tanaman bengkuang maupun mikroorganismeendofitnya memilikipotensisebagaisumber alami inhibitor tirosinase yang dapat menghambat pembentukan dopakrom yang ditandai dengan warna coklat pada reaksi enzimatis.

Pengujian ini, ditemukan beberapa data yang menyimpang. Data *outlier* atau data yang tidak terbaca, ditandai dengan warna biru pada lampiran 4. merupakan data yang memiliki karakteristik yang berbeda dengan data lainnya. Data *outlier* dapat memberikan pengaruh yang cukup signifikan pada hasil penelitian, tetapi pengaruh inidapat diatasidengandua cara, yang peratama menggantidataoutlier dengan nilaidata lain yang bukanoutlier dan yang kedua menghapusdataoutlier, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Aulia dan Atok (2017). Kemunculandata initidak bisa diprediksi karena terdapat berbagai macamfaktor yangmenjadipenyebabkemunculandatatersebut,salahsatunyaadalahkesalahan pengukuran.

Kesalahanpengukurandapatterjadikarenainstrumenpengukuranyangcacat, bias respons dari partisipan dan kesalahan dalam prosedur pengumpulan data (Mandasini, 2022). Kemudian hasil penelitian Batista *et al*. (2015) menyatakan bahwa,komalahanyangditemukanutukmikropipet10μl.dan100μLlebihtinggi dibandingkan mikropipet 1.000 μL dan 10.000 μL., yang berarti semakin kecil velumnya, semakin tinggi tingkat kesalahanrıya. Hal ini berkaitan dengan penelitianyangdilakukan,karenapengujianmenggunakan*Microplate reader*dimanasampelyangdipakaidalamskalamikro.Berdasarkanteoridiatas,

penelitimemilihuntukmenghapusdataoutlieragartidakmempengaruhidatahasıl penelitian, seperti yang terlihat pada (Lampiran 4) yang di tandai dengan warna biru.

Dari hasil penelitian yang diperoleh, terdapat aktivitas dari jamur endofit padabuahbengkuangyangmemilikipotensisebagaiinhibitorenzimtirosinase, hal ini diperkuat pada aktivitas IC_{50} yang lebih poten dibandingkan dengan nilai IC_{50}ekstrak sampel bengkuang saja. Beberapa isolat yang ekstraknya dapat dimanfaatkandenganaktivitasinhibitortirosinaseterbaikberupaekstrakPE3,PE2 dan PE5 dengan ekstrak PE3 dengan nilai potensiasi tertinggi dengan nilai presentase 21,041%, diikuti dengan ekstrak PE2 dan PE5 dengan presentase 15,000%dan13,589%lebihkuatrelatifdariasamkojat,dilanjutkandenganekstrak PE1 (0,362%) dan ekstrak PE4 (0,222%). Beberapa isolat jamur endofit buah bengkuang pada penelitian ini menunjukkan potensi sebagai agen penghambat enzimtirosinase yangbaik,sehinggaberpeluanguntukdikembangkanlebihlanjut sebagai bahan aktif alami dalam formulasi sediaan kosmetik, khususnya produk pencerah kulit. Hasil penelitian ini juga memberikan informasi awal mengenai potensimetabolitsekunderjamurendofitbuahbengkuangyangdapatdimanfaatkan dalam pengembangan bahan kosmetik berbasis bahan alam.

BAB V

KESIMPULANDANSARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

a. Dari pengamatan makroskopis yang telah dilakukan, diperoleh 5 isolat jamur endofit yang berbeda diamati dari perbedaan warna dan bentuk, pengamatan ini meliputi bentuk jamur, warna, bentuk tepian dan bulatan konsentris pada pengapatanmakroskopisdanpengamatanberdasarkanmorfologispora,hifa,septa, miselium, fialid. Kedua pengamatan ini dilakukan agar pengamatan karakteristik jamur endofit buah bengkuang lebih akurat.

b. Dari pengamatan mikroskopis yang dilakukan, terdapat persamaan dan perbedaan karakteristik hifa dan spora dari kelima isolate yang telah didapatkan. Berdasarkan pengamatan mikroskopis, isolat PE1, PE2, PE3, PE4 dan PE5 memiliki hifa bersepta, hialin, dan bercabang serta menghasilkan spora aseksual berupa konidia. Isolat PE3 diidentifikasi sebagai Aspergillus (kemungkinan *Aspergillus niger*) karena memiliki vesikeldengan konidia hitam berbentuk bulat, sedangkanPE1,PE2,danPE4danPE5kemungkinantermasuk *Penicillium*karena tidak memiliki vesikel dan menghasilkan konidia berbentuk bulat (oval) dengan warna hijau kekuningan.

c. Dari kelima ekstrak sampel uji, ekstrak PE2, PE3 dan PE5 menunjukkan aktivitas inhibitor tirosinase terbaik, dengan ekstrak PE3 dengan nilai potensiasi tertinggi dengan nilai presentase 21,041%, diikuti dengan ekstrak PE2 dan PE5 dengan presentase 15,000% dan 13,589% lebih kuat relatif dari asam kojat, dilanjutkan dengan ekstrak PE1 (0,362%) dan ekstrak PE4 (0,222%).

Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengisolasi dan karakterisasi senyawaaktifyangbertanggungjawabatasaktivitasinhibitorenzimtyrosinase,dan dapat mengidentifikasi spesies jamur endofit buah bengkuang yang memiliki aktivitas inhibitor enzim tirosinase tersebut.

DAFTARPUSTAKA

Alam,B.,Lǐ,J.,Gě,Q.,Khan,M.A.,Gōng,J.,Mehmood,S.,&Gǒng,W.(2021). Endophytic Fungi: From Symbiosis to Secondary Metabolite Communications or Vice Versa. Frontiers in Plant Science, 1(12), 1-24.

Adeleke,B.S.,&Babalola,O.O.(2021).ThePlantEndosphere-HiddenTreasures: a Review of Fungal Endophytes. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 37(2), 154-177.

Andreozzi,A.,Balestra,G.M.,&Rossi,F.(2019).DiversityofFungalEndophytes andtheirBiologicalRolesinHostPlants.*JournalofFungalBiology*,14(2), 45–53.

Anizah, N., &Sjakoer, N. A. A. (2022). Surface sterilizationofmango's mistletoe leaves *(Dendrophtoe pentandra* (L.) for endophytic fungi isolation. Jurnal Biologi Tropis, 22(1), 45–50.

Brooks, G. F., K. C. Carroll., J. S. Butel., & S. A. Morse. (2007). Medical Microbiology, 24th Ed. McGraw Hill Professional. New York.

Deng, Y., & Cao, L. (2017). Regulatory Interactions Between Endophytic Fungi and Host Plants Under EnvironmentalStress. *Plant Microbiome Research*, 9(3), 112–124.

Du, Z., Zhang, X., & Wang, H. (2020). Endophytic Fungi as Producers of Pharmacologically Important Metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 11, 562234.

Ezeobiora,C.E.,Igbokwe,N.H.,Amin,D.H.,&Mendie,U.E.(2021).Endophytic microbes from Nigerian ethnomedicinal plants: A potential source for bioactive secondary metabolites—A review. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1), 1-10.

Firdaus, S. M., Rosyidah, M., Permadi, A., Sulistiawati, E., & Wardhana, B. S. (2024).Optimasiprosesekstraksimaserasi:Analisisterhadapvariabelyang berpengaruh. *Pharmacy Research of Plant* 8(2), 15-19.

Fitrah, M., Rahmawati, S., &Indrasari, D. (2015). PemanfaatanUmbiBengkuang sebagai Bahan Pencerah Kulit Alami dalam Sediaan Kosmetik Modern. *Jurnal Kesehatan dan Farmasi*, 7(1), 12–20.

Gupta, S., Chaturvedi, P., & Sharma, M. (2020). Symbiotic Relations Between Endophytic Fungi and Host Plants: Structural and Biochemical Perspectives. *Mycology International*, 5(4), 215–230.

Handayani, D., H. Rivai., R. Mulyana., N. Suharti., R. Rasyid., & T. Hertiani. (2018). Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Endophytic Fungi IsolatedfromMangrovePlantSonneratiaalbaSm.*PharmaceuticalScience*, 8(2), 049-053.

Handayani, D., Pratiwi, E. M. I., &Fajrina, A. (2019). Senyawa Antimikroba dari Jamur Endofit *Trichoderma koningiopsis* SaKB1 yang Diisolasi dari TanamanMangrove Sonneratia albaSm.*JurnalMikrobiologi*,6(2),92–101.

Janatun, S., Dewi, R., & Kusuma, A. (2022). Evaluasi potensi Ekstrak Umbi BengkuangSebagaiInhibitorTirosinasedalamFormulasiKosmetik.*Jurnal Fitokimia Indonesia*, 4(2), 88–97.

Kandou,F.E.,&Singkoh,M.F.(2018).IsolasidanIdentifikasiJamurEndofitpada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. Jurnal MIPA, 7(2), 24–28.

Kjer, J., A. Debbab., A. H. Aly., & P. Proksch. (2010). Methods for Isolation of MarineDerivedEndophyticFungiandTheirBioactiveSecondaryProducts, *Journal of Pharmacy* 5(3), 479-490.

Laovachirasuwan, S., &Phadungkit, M. (2023). Tyrosinase InhibitoryPotentialof *Pachyrhizus erosus* Extracts and Isolated Flavonoids. *Asian Journal of Natural Products*, 10(1), 33–41.

Lee, J. Y., Kim, M. H., & Park, S. (2017). Whitening and Antioxidant Effects of Pachyrhizus erosus extract in topical application. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 16(3), 410–417.\

Lü, Z. W., Liu, H. Y., Wang, C. L., Chen, X., Huang, Y. X., Zhang, M. M., & Zhang, G. F. (2023). Isolation of Endophytic Fungi from Cotoneaster multiflorus and Screening of Drought-Tolerant Fungi and Evaluation of their Growth-Promoting Effects. *Journal of Microbiology*, 1(14), 1-14

Lukitaningsih, E., & Holzgrabe, U. (2014). Bioactive compounds in bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) as Antioxidant and Tyrosinase Inhibiting Agents. Indonesian *Journal of Pharmacy*, 25(2), 68–75.

Maheswari, R., Harish, B., & Divya, S. (2017). Endophytic fungi: Diversity, Ecological Significance, and Biopotential Applications. *International Journal of Microbial Ecology*, 22(1), 1–10.

Miksusanti, S., Yuhan, M., & Lestari, P. (2020). Morfologi dan Kandungan Fitokimia Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dari Berbagai Daerah di Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 9(4), 204–213.

Montagnac, J. A., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2022). Nutritional Evaluation of Tropical Root Crops with Emphasis on *Pachyrhizus erosus*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(1), 51–63.

Naim,N.2016.PemanfaatanBekatulsebagaiMediaAlternatifuntukPertumbuhan Aspergillus sp. *Jurnal Farmasi*, 2(2), 1-6.

Park, J., Lee, H., & Han, Y. (2016). Nutritional Attributes and Traditional Uses of Jicama (*Pachyrhizus erosus*). *Food Science Review*, 12(3), 98–106.

Pornpurn, A., & Methin, T. (2023). Utilization of Tuber Extracts In cosmetic Formulations: Focus on Skin Brightening Mechanisms. *Journal of Herbal Dermatology*, 5(1), 55–63.

POWO. (2014). *Pachyrhizus erosus (L.) Urb.* Plants of the World Online. Royal BotanicGardens,*https://powo.science.kew.org/*diakses:2November2025

Ramos, A., Delgado, R., & Silva, M. (2019). Endophytic fungi associated with medicinalplanttubersandtheirbioactivecompounds.*MycologicalStudies Journal*, 18(2), 123–131.

Rashmi, M. (2019). Endophytic fungi: A New Source of Natural Bioactive Compounds. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(3), 1481–1493.

Risa, A., & Kharisma, D. (2025). Analisis risiko Kesehatan Akibat Penggunaan Bahan Pemutih Iegal dalam Kosmetik. *Jurnal Keselamatan Obat dan Kosmetik*, 3(1), 1–11.

Saad, M. M., Ghareeb, R. Y., & Saeed, A. A. (2019). The PotentialofEndophytic Fungi as Bio-Control Agents Against the Cotton Leafworm, Spodoptera Littoralis(Boisd.)(Lepidoptera:Noctuidae).EgyptianJournalofBiological Pest Control, 29(1), 1-7.

Sande,R.(2020).BahayaMerkuridanHidrokuinondalamkrimpemutihkulit. *JurnalKesehatan Lingkungan*, 19(2),67–75.

Siregar,R.,Handayani,D.,&Putri,S.(2019).AktivitasAntioksidandanPencerah KulitEkstrakKulitUmbiBengkuang.*Pharmacon:JurnalIlmiahFarmasi*, 8(2), 75–83.

Suhartina,K.F.,&Singkoh,M.F.O.(2018).IsolasidanIdentifikasiJamurEndofit pada Tumbuhan Paku Asplenium nidus. Jurnal FMIPA, 7(2), 24–28.

Sujono,P.,Fahrurozi, A., &Wulandari, S. (2021).Review fitokimiadanAktivitas Farmakologi Tanaman Bengkuang (Pachyrhizus erosus). *Jurnal Review Fitofarmaka*, 2(1), 10–25.

Theresia, L. (2024). Tren Penggunaan Produk Pemutih Kulit dan Dampaknya TerhadapKesehatanKulitWanita.*JurnalSosialdanKesehatan*,14(1),25–39.

Wijaya, C., Elya, B., & Yanuar, A. (2018). *Study of tyrosinase inhibitory activity and phytochemical screening of Cassia fistula L. leaves*. International Journal of Applied Pharmaceutics, 10 **(**Special Issue 1), 385–387.

Xueli,W.,Zhang,Q.,&Liu,S.(2024).MelaninBiosynthesisRegulatoryPathways and Inhibition Strategies. *International Journal of Dermatological Biochemistry*, 6(2), 89–103.

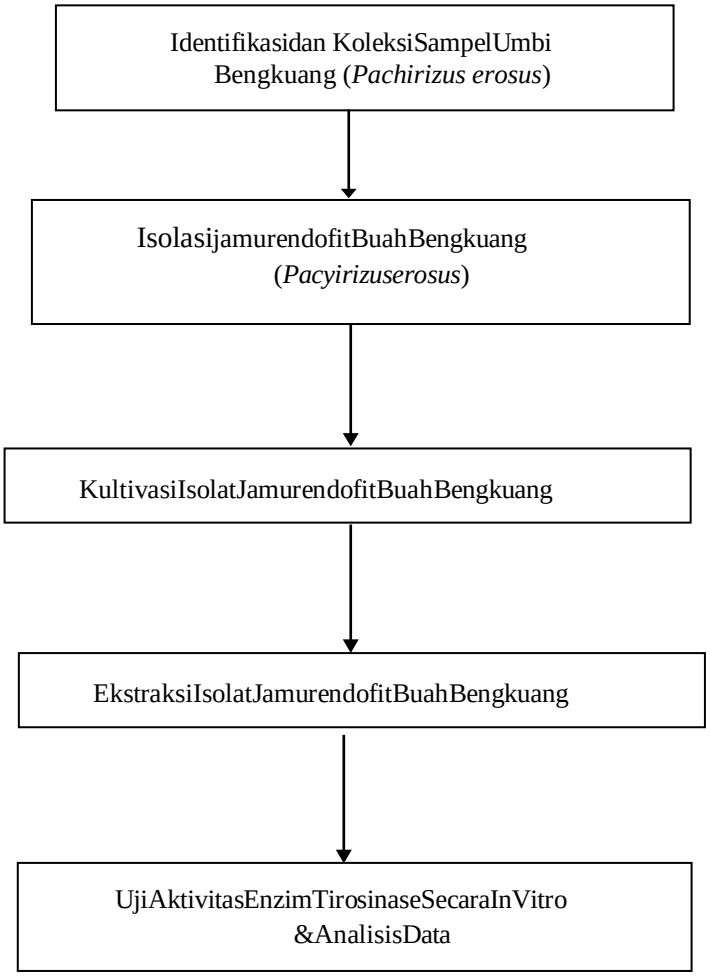
Yamamoto, T., Sato, H., & Kondo, Y. (2017). Fungal Endophytes and their Dynamic Interactions with Host Plants. *Annual Review of Plant-Microbe Interactions*, 5, 201–222.

Yuniarsih, N., Putri, M., & Apriliani, D. (2021). Pemanfaatan Bengkuang dalam Skincare lokal Berbasis Bahan Alam. *Jurnal Kosmetika Indonesia*, 11(2), 130–138.

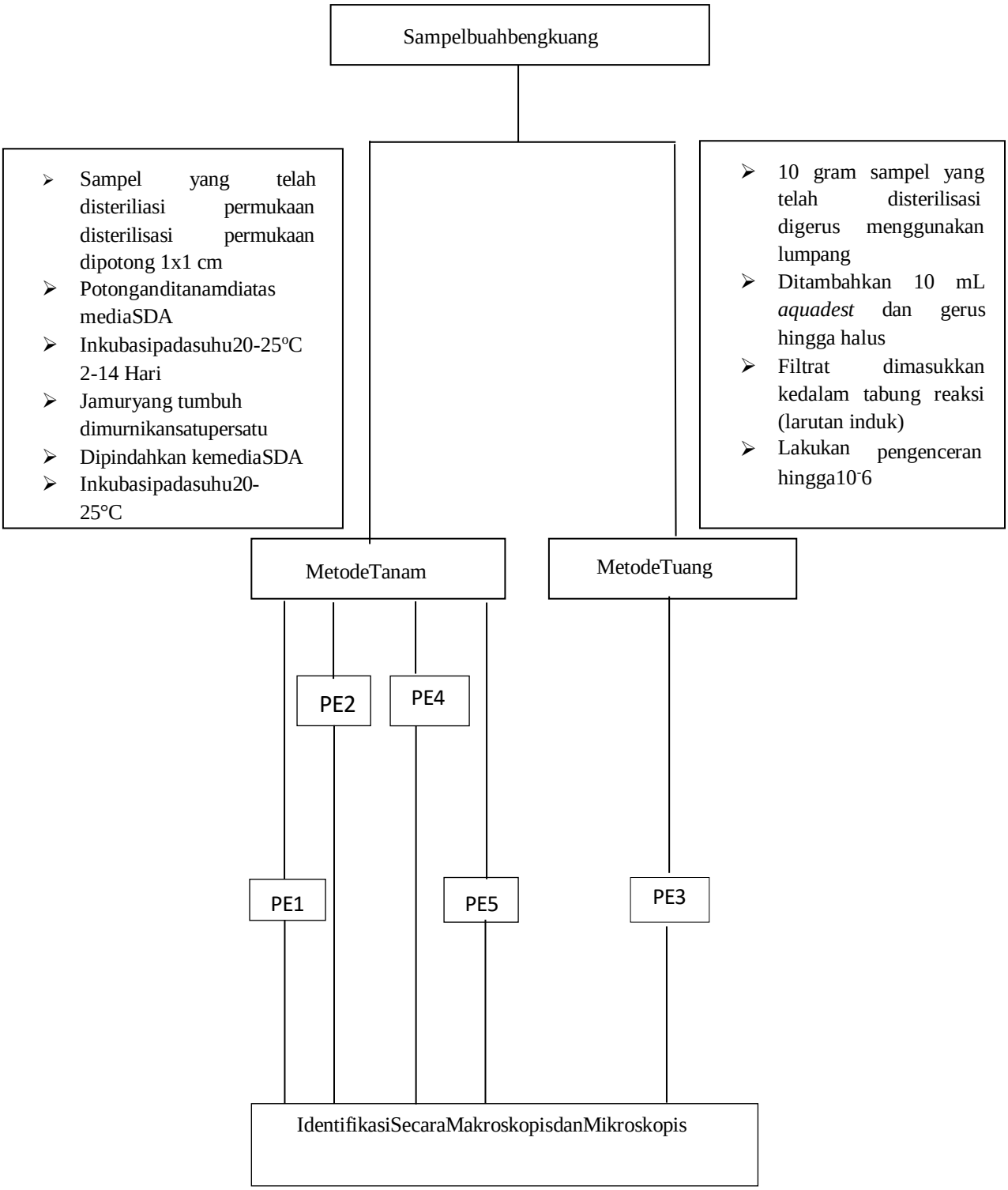
Zhao, J., Li, H., & Chen, X. (2023). Consumer Behavior and Cultural Drivers of Skin-Whitening Product Usage inAsia. *Asian Beauty and Society Journal*, 8(1), 14–2

DAFTARLAMPIRAN

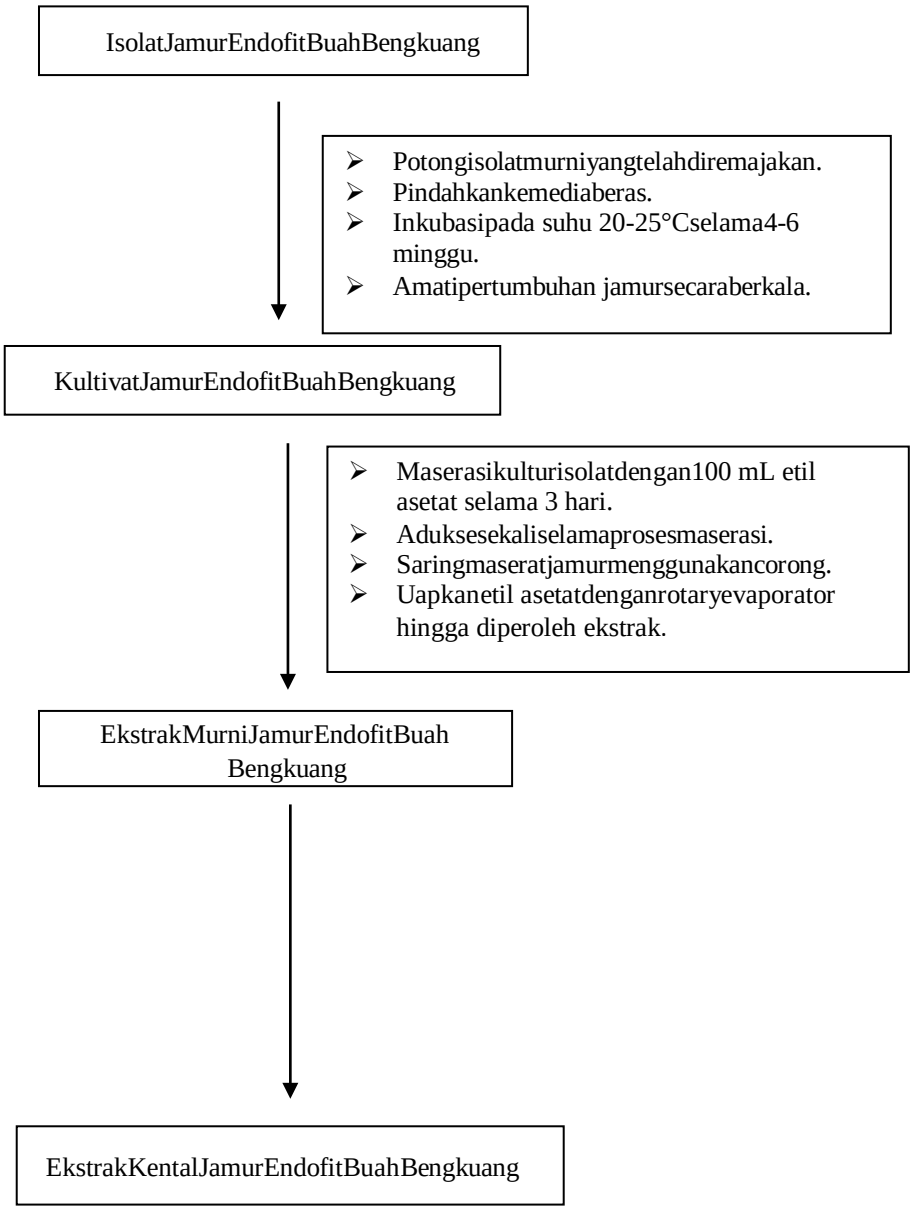
Lampiran1. SkemaMetodologiPenelitian



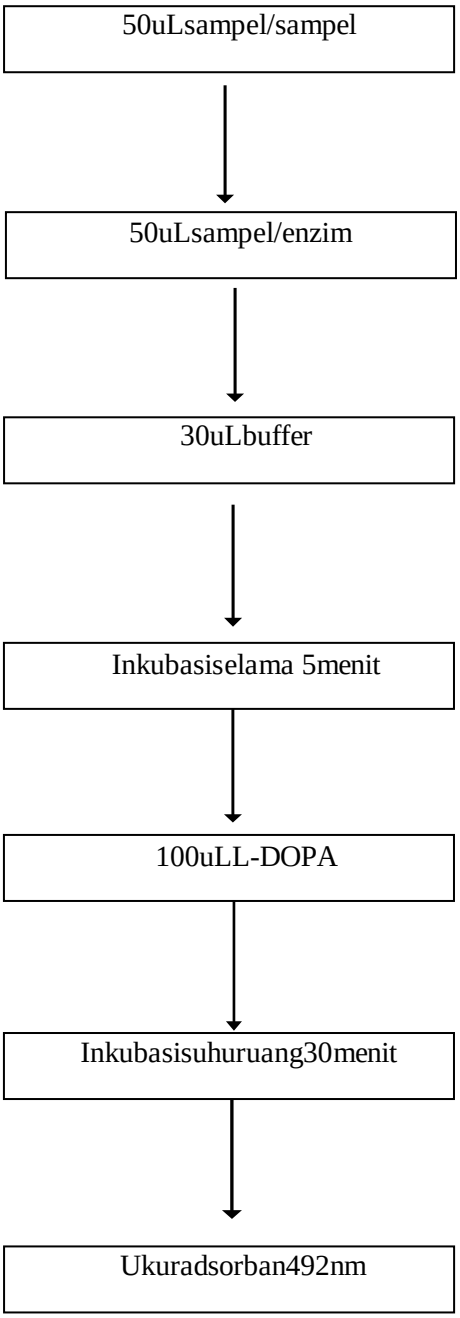
Lampiran1.ProsesIsolasiJamurEndofitbuahbengkuang



Lampiran1.BaganProsesKultivasidanEkstraksiJamurEndofitbuah bengkuang



Lampiran1.BaganProsesPengujianAktivitasInhibitorTirosinase



Catatan:

- Kontrolsampel:Tanpaprenambahanenzim(digantidenganbuffer)
- Blanko:Tanpapenambahansampel(digantidenganDMSO10%dalam buffer)
- KontrolBlanko:Tanpapenambahansampel,tanpapenambahanenzim, (diganti buffer)

Lampiran2. DataIdentifikasiSampel

HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)
Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang
Sumbar Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 e-mail: herbariumanda@yahoo.com

Nomor : 230/K-ID/ANDA/V/2026
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Nathania Ruella
Di
Tempat

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat permohonan determinasi sampel dari Universitas Dharma Andalas di Herbarium Universitas Andalas Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, dari:

Nama : Nathania Ruella
NIM : 22160020
Instansi : Universitas Dharma Andalas (UNIDHA)

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas

No	Family	Spesies
1.	Fabaceae	*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 5 Mei 2026
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001

Lampiran3. Perhitunganuntukpengujianenzimtyrosinase danCOATirosinase

A. Perhitungan

1. ProsedurPembuatanLarutanDMSO&DaparFosfat100mL

   Setiap 100 mL larutan terdapat 1 mL DMSO

- DMSO1%x10mL=**0.100mL (100 µl)**

  DaparFosfat

- =10mL–0.1mL=**9,9mL**

2. ProsedurPembuatanLarutanL-DOPA:

   Massa L-DOPA yang dibutuhkan :

$$M = \frac{\text{massa(g)}}{\text{Mr}\left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) X Volume(L)}$$

- MassaL-DOPA=50mg=0,050g
- MrL-DOPA=197,19G/MOL
- Volume=50mL=0,050L

$$n = \frac{0,050}{197,19} = 0,0002536\text{mol}$$

$$M = \frac{0,0002536}{0,050} = 0,0057\text{mol/L}$$

$$= \mathbf{5,07}\boldsymbol{mM}$$

Untuk100mL(0.100L)Larutan20mM(0.020)

- Molyangdibutuhkan=0.020x0.100=0.00200mol
- Massa=0.00200x197.19=0.39438g=**394.4mg**

3. ProsedurPembuatanEnzimTirosinasedari4187IU/mgsediaanyangadake30 IU/mg

- $C_1V_1=C_2V_2$
- Untukmembuat10mL:

  C_1= 6540 IU/mL

  C_2=250U/mL

  V_2 = 10 mL

  $V_1 = \frac{250x10}{6540} = 0,3822\text{mL} = 382,2\mu\text{L} \approx$ **3,82mg**

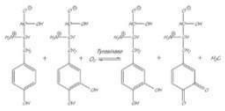
B. COATirosinase

Sigma-Aldrich.

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigma-aldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name :	**Tyrosinase from mushroom lyophilized powder, ≥1000 unit/mg solid**
Product Number :	**T3824-25KU**
Batch Number :	**0000314305**
Source Batch :	SLCP2456
CAS Number :	9002-10-2
MDL Number :	MFCD00082118
Storage Temperature :	Freezer -20°C
Recommended Retest Date :	Jan 2026
Quality Release Date :	17 JAN 2023



Test	Specification	Result
units/mg Solid Tyrosinase Activity Unit Definition: One unit will cause an increase in A280 of 0.001 per minute at pH 6.5 at 25 deg C in a 3 mL reaction mix containing L-tyrosine	≥ 1000	6540
units/mg Solid Polyphenol Oxidase Activity Unit Definition: One unit will cause a decrease in A265 of 0.001 per minute at pH 6.5 at 25 deg C. In a 3 mL reaction mixture containing L-Beta-3,4-dihydroxyphenyl-alanine (L-DOPA)	≥ 30000	147488
units/mg Solid Catechol Oxidase Activity Unit Definition: One unit will cause a decrease in A265 of 0.001 per minute at pH 6.5 at 25 deg C in a 3 mL reaction mixture containing catechol and ascrobic acid	≥ 30000	816274

Brian Dulle, Supervisor
Quality Assurance
St. Louis, Missouri
US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchase must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of website or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 01 Doc 1144365

The branding on the header and/or footer of this document may temporarily not visually match the product purchased as we transition our branding. However, all of the information in the document regarding the product remains unchanged and matches the product ordered.
For further information please contact mlsbranding@sial.com

Lampiran4. Hasilpengukuranadsorbansisampelujipengujianinhibitortyrosinase

Tabel10. DataAdsorbansiekstrakjamurendofitbuahbengkuang(PE1)

Sampel Uji	Kons. Final (ppm)	Abs Sampel			Abs Rata-rata	Abs Blanko Rata rata	%Inhibisi	Log Konsen-trasi	Nilai Probi
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
PE1	125.000	0.165	0.164	0.171	0.167	0.153	2.179	2.097	#NUM!
	62.500	0.152	0.143	0.147	0.147	0.153	8.932	1.796	3.655
	31.250	0.153	0.152	0.150	0.152	0.153	4.793	1.495	3.335
	15.625	0.152	0.149	0.147	0.149	0.153	6.972	1.194	#NUM!
	7.813	0.156	0.157	0.156	0.156	0.153	1.743	0.893	2.890
	3.906	0.141	0.141	0.150	0.144	0.153	8.497	0.592	#NUM!
	1.953	0.154	0.145	0.154	0.151	0.153	6.536	0.291	#NUM!

Keterangan : Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

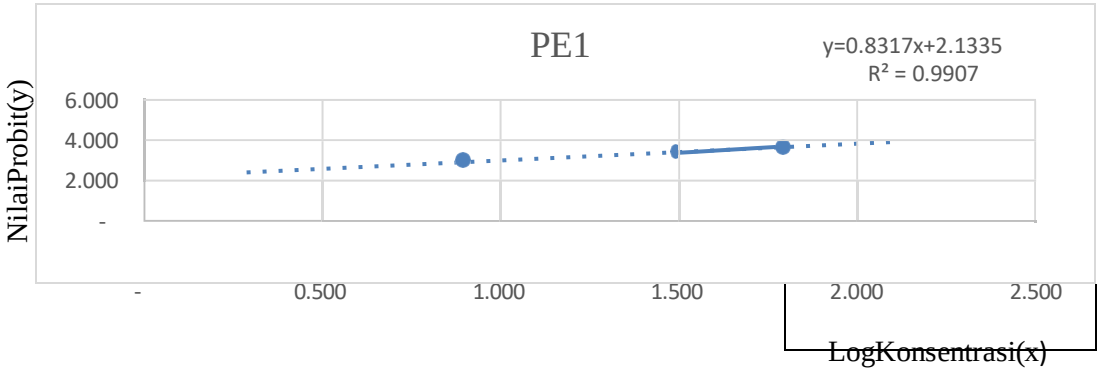
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5.2,1335}{0,8317}$

x = 1147.790947



IC_{50}=3.05986ppm

Gambar8. Kurva regresiekstrakPE1

Tabel11. DataAdsorbansiekstrakjamur endofitbuahbengkuang(PE2)

Sampel Uji	Kons. Final (ppm)	Abs Sampel			Rata-rata	Blanko Rata rata	% Inhibisi	Log Kosen-trasi	Nilai Probit
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
PE2	125.000	0.024	0.033	0.025	0.027	0.153	85.403	2.097	6.054
	62.500	0.047	0.046	0.048	0.047	0.153	72.549	1.796	5.599
	31.250	0.065	0.07	0.068	0.068	0.153	59.041	1.495	5.229
	15.625	0.158	0.098	0.086	0.114	0.153	28.758	1.194	4.440
	7.813	0.165	0.164	0.161	0.163	0.153	0.436	0.893	#NUM!
	3.906	0.159	0.158	0.161	0.159	0.153	0.436	0.592	#NUM!
	1.953	0.164	0.16	0.16	0.161	0.153	-0.218	0.291	#NUM!

Keterangan: Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

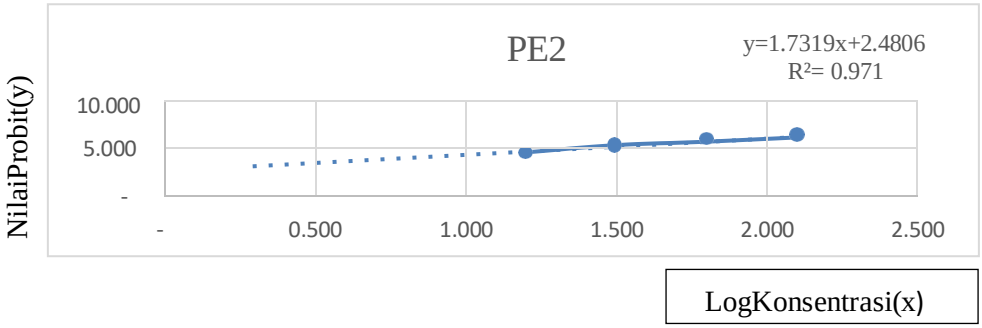
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5.2,4806}{1,7319}$

x=28.490

IC_{50}=1.45470ppm



Gambar8. Kurva regresiekstrakPE2

Tabel12. DataAdsorbansiekstrakjamurendofitbuahbengkuang(PE3)

Sampel Uji	Kons. (ppm)	Abs Sampel			Rata-rata	Blanko Rata rata	% Inhibisi	Log Kosen-trasi	Nilai Probit
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
PE3	125.000	0.291	0.307	0.267	0.288	0.153	-6.100	2.097	#NUM!
	62.500	0.039	0.05	0.184	0.091	0.153	81.699	1.796	5.904
	31.250	0.069	0.078	0.066	0.071	0.153	60.131	1.495	5.257
	15.625	0.09	0.092	0.089	0.090	0.153	44.227	1.194	4.855
	7.813	0.118	0.126	0.108	0.117	0.153	26.580	0.893	4.374
	3.906	0.137	0.174	0.131	0.147	0.153	6.972	0.592	3.522
	1.953	0.149	0.16	0.149	0.153	0.153	3.486	0.291	3.186

Keterangan: Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

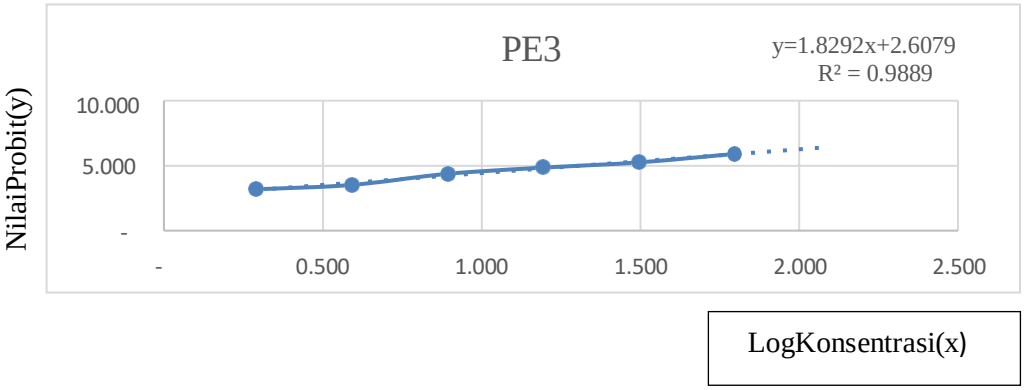
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5.2,6079}{1,8292}$

x=20.310

IC_{50}=1.30773ppm



Gambar9. KurvaregresiekstrakPE3

Tabel13. DataAdsorbansiekstrakjamurendofitbuahbengkuang(PE4)

Sampel Uji	Kons. (ppm)	Abs Sampel			Rata-rata	Blanko Rata rata	% Inhibisi	Log Kosen-trasi	Nilai Probit
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
PE4	125.000	0.14	0.136	0.14	0.139	0.145	16.284	2.097	4.017
	62.500	0.16	0.151	0.162	0.158	0.145	1.147	1.796	#NUM!
	31.250	0.153	0.153	0.161	0.156	0.145	-0.229	1.495	#NUM!
	15.625	0.155	0.151	0.153	0.153	0.145	-0.459	1.194	#NUM!
	7.813	0.157	0.152	0.157	0.155	0.145	-1.376	0.893	#NUM!
	3.906	0.143	0.149	0.16	0.151	0.145	1.147	0.592	2.725
	1.953	0.148	0.151	0.161	0.153	0.145	0.688	0.291	2.537

Keterangan: Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

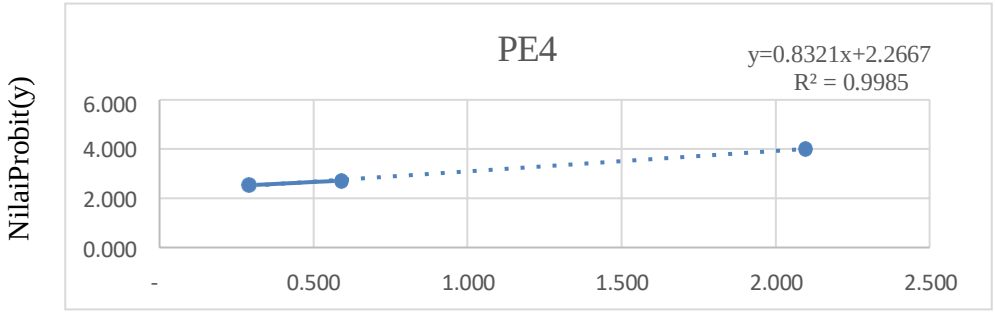
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5.2,2667}{0,8321}$

x =1926.733

IC_{50}=3.28482ppm



Gambar10. Kurva regresiekstrakPE4

Tabel14. DataAdsorbansiekstrakPE5

Sampel Uji	Kons. (ppm)	Abs Sampel			Rata-rata	Blanko Rata rata	% Inhibisi	Log Kosen-trasi	Nilai Probit
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
PE5	125.000	0.024	0.033	0.025	0.027	0.145	84.633	2.097	6.021
	62.500	0.047	0.046	0.048	0.047	0.145	71.101	1.796	5.556
	31.250	0.065	0.07	0.068	0.068	0.145	56.881	1.495	5.173
	15.625	0.158	0.098	0.086	0.114	0.145	25.000	1.194	4.326
	7.813	0.165	0.164	0.161	0.163	0.145	-4.817	0.893	#NUM!
	3.906	0.159	0.158	0.161	0.159	0.145	-4.817	0.592	#NUM!
	1.953	0.164	0.16	0.16	0.161	0.145	-5.505	0.291	#NUM!

Keterangan: Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

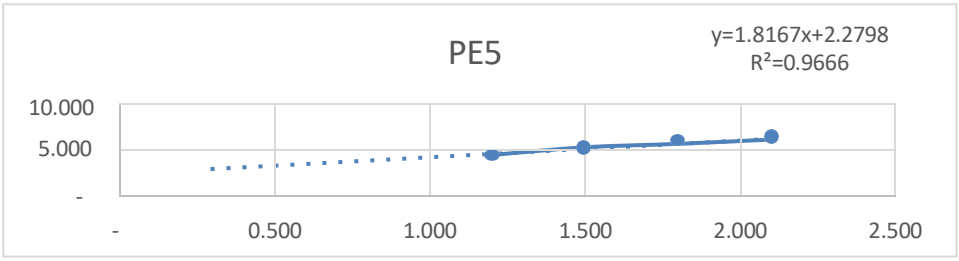
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5,2,2798}{1,8167}$

x=31.428

IC_{50}=1.49733ppm



Gambar11. KurvaregresiekstrakPE5

Tabel15. DataAdsorbansiekstrakPembanding(AsamKojat)

Sampel Uji	Kons. (ppm)	Abs Sampel			Rata-rata	Blanko Rata rata	% Inhibisi	Log Kosen-trasi	Nilai Probit
		I	II	III	(A1)	(A0)	(%)	(X)	(Y)
As. Kojat	100	0.291	0.307	0.267	0.288	0.145	-11.697	1.398	#NUM!
	50	0.039	0.05	0.184	0.091	0.145	80.734	1.097	5.868
	25	0.069	0.078	0.066	0.071	0.145	58.028	0.796	5.203
	12.5	0.09	0.092	0.089	0.090	0.145	41.284	0.495	4.780
	6.25	0.118	0.126	0.108	0.117	0.145	22.706	0.194	4.251
	3.125	0.137	0.174	0.131	0.147	0.145	2.064	#NUM!	#NUM!
	1.5625	0.149	0.16	0.149	0.153	0.145	-1.606	#NUM!	#NUM!

Keterangan: Tidakdipakaiuntukperhitungan

Perhitungan:

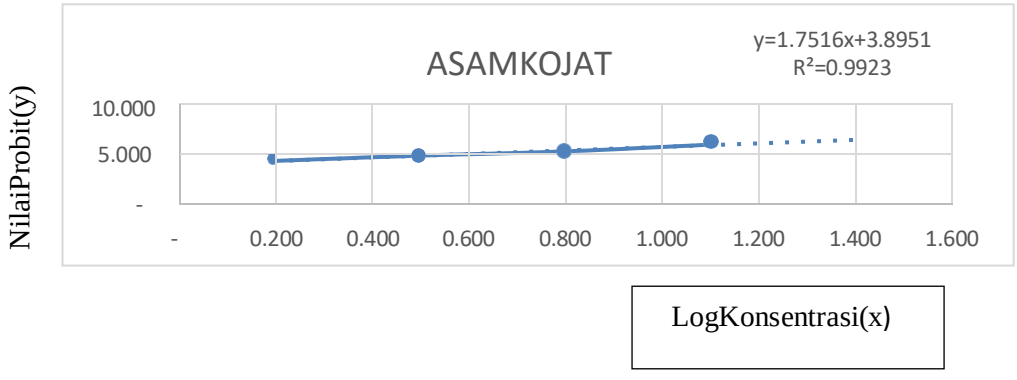
y=ax+b

$x = \frac{y-b}{a}$

$x = \frac{5.3,8951}{1,7516}$

x=4.273

IC_{50}=0.63079ppm



Gambar11. Kurvaregresiasamkojat

Lampiran5. HasilPengujianAktivitasInhibitorEnzimTyrosinase

