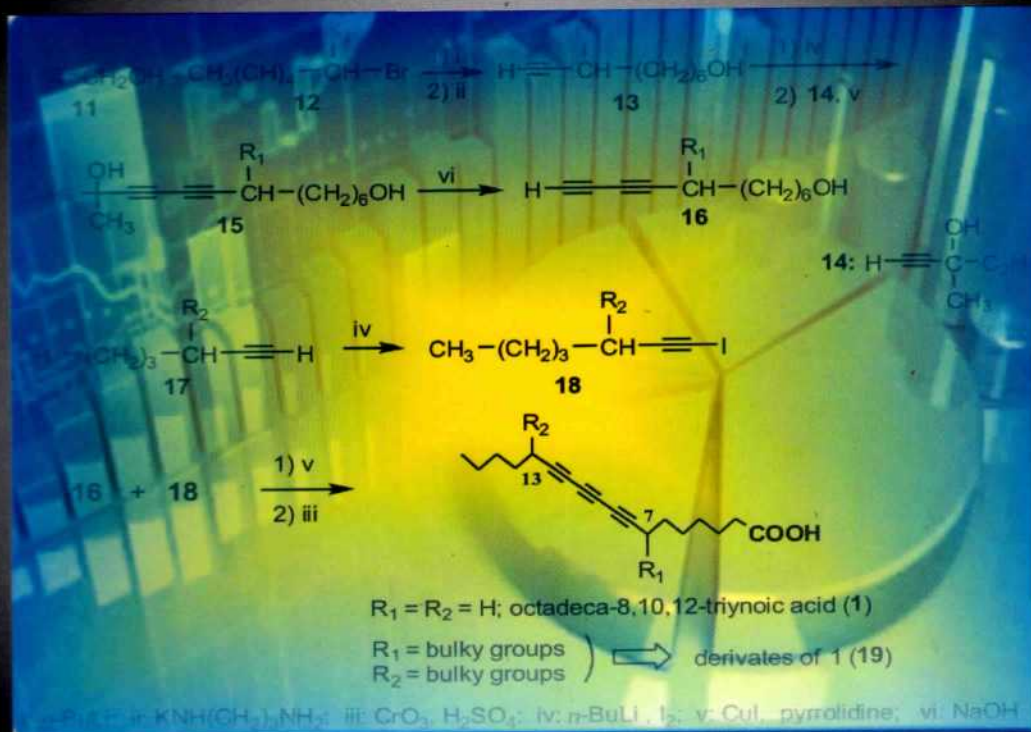


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Berita **Biologi** merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekerjanya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi—LIPI
Kompleks Cibinong Science Centre (CSC-LIPI)
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksama_p2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

Keterangan gambar cover depan: *Aluryang dipercaya sebagai pathway sintesa kimia asam oktadeka-8,10,12-triunoat, yang memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap empat jenis galur sel kanker manusia, sesuai makalah di halaman 343 - H Winarno - Center for the Application of Isotopes and Radiation Technology - Badan Tenaga Atom Nasional.*



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

ISSN 0126-1754

Volume 9, Nomor 4, April 2009

Terakreditasi A

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.

Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan.*
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tandatitik pemisah.
 - a. Jurnal

Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
 - b. Buku

Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:

Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku

Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogar@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr. Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr **Kartini** Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogeia (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi iVlolekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Sunarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Andi Utama (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LI PI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryono (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr **Sih** Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/Penilai (Referee) nomor ini
9(4)-April 2009

Prof. Dr. Adek Zamrud Adnan - *Universitas Andalas*
Dr. Ary P Keim - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Chaerani - *BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*
Dr. Elfahmi - *Institut Teknologi Bandung*
Dr. Heddy Julistiono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Ingrid S Surono, MSc - *SEAMEO Tropmed RCCN - Universitas Indonesia*
Dr. Irawati - *Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*
Nyoto Santoso, MSc - *Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*
Dr. Sih Kahono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Tjandra Chrismadha - *Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*
Dr. Ir. Warid Ali Qosim, MSc. - *Universitas Padjajaran*
Dr. Yusnita Said - *Universitas Lampung*

Referee/Mitra Bestari Undangan
Ir. Heryanto MSc - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Drs. Mustarim Siluba - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI(Purnabhakti)*
Hari Nugroho, SSi. - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF OCTADECAN-8,10,12-TRICARBOXYLIC ACID AGAINST HUMAN CANCER CELL LINES [Antiproliferasi Asam Oktadeka-8,10,12-triunat Terhadap Galur Sel Kanker Manusia] <i>Hendig Winarno</i>	343
KEANEKARAGAMAN DAN SEBARAN SERANGGA DI KAWASAN PULAU-PULAU KECIL TAMAN NASIONAL KARIMUN JAWA [Diversity and Distribution of Insects in Small Islands of Karimunjawa National Park] <i>Erniwati</i>	349
STRUKTUR DAN KEKAYAAN JENIS TUMBUHAN MANGROVE PASCA-TSUNAMI DI PULAU NIAS [Structure and Species richness of Mangroves Plant Post-Tsunami in Nias island] <i>Onrizal dan Cecep Kusmana</i>	359
PENGARUH EKSTRAK AIR DAN ETANOL <i>Alpinia</i> spp. TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG YANG DIINDUKSI BAKTERI <i>Staphylococcus epidermidis</i> SECARA <i>IN-VITRO</i> [The Effect of Water and EtOH extracts of <i>Alpinia</i> spp. to <i>in-vitro</i> Phagocytosis Activity and Capacity Macrophage Cells Induced by <i>Staphylococcus epidermidis</i>] <i>Dewi Wulansari, Praptiwi dan Chairul</i>	365
KOMUNITAS CACING TANAH PADA BEBERAPA PENGGUNAAN LAHAN GAMBUT DI KALIMANTAN TENGAH [Earthworms Community on Several Land uses of Peat Land in Central Kalimantan] <i>Eni Maftu'ah dan Maulia Aries Susanti</i>	371
KEANEKARAGAMAN FAUNA IKAN EKOSISTEM MANGROVE DI KAWASAN TAMAN NASIONAL UJUNG KULON, PANDEGLANG-BANTEN [Biodiversity of Fish Fauna Mangrove Ecosystem at Ujung Kulon National Park, Pandeglang-Banten] <i>Gema Wahyudewantoro</i>	379
(-)-(2R,3S)-DIHIDROKUERSETIN, SUATU PRODUK BIOTRANSFORMASI (-)-EPIKATEKIN OLEH JAMUR ENDOFIT <i>Diaporthe</i> sp. E [(-)-(2R,3S)-Dihydroquercetin, a Biotransformation Product from (-)-Epicatechin by the Endophytic Fungus <i>Diaporthe</i> sp. E] <i>Andria Agusta</i>	387
PENGARUH PENINGKATAN KONSENTRASI AMONIUM TERHADAP PERKEMBANGAN <i>Meloidogyne javanica</i> PADA KULTUR AKAR TOMAT [Effect of Increasing Ammonium Concentrations on Development of <i>Meloidogyne javanica</i> in Tomato Root Culture] <i>Sudirman</i>	393
PERSEBARAN DAN POLA KEPADATAN MOLUSKA DI HUTAN BAKAU [Distribution and Pattern of Species Abundance of Mangrove Molluscs] <i>Arie Budiman</i>	403

INDUKSI KERAGAMAN SOMAKLONAL DENGAN IRADIASI SINAR GAMMA DAN SELEKSI <i>IN VITRO</i> KALUS PISANG RAJABULU MENGGUNAKAN ASAM FUSARAT, SERTA REGENERASI DAN AKLIMATISASI PLANTLET [Gamma Irradiation for Somaclonal Variation Induction and <i>in vitro</i> Selection Using Fusaric Acid in Pisang Rajabulu calli Along with Regeneration and Plantlet Acclimatization] <i>Endang G Lestari, R Purnamaningsih, I Mariska dan Sri Hutami</i>	411
PENGARUH MUTAGEN ETIL METAN SULFONAT (EMS) TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR <i>IN VITRO</i> ILES-ILES (<i>Amorphophallus muelleri</i> Blume) [Effects of Ethyl Methane Sulphonate {EMS} on Growth of lies-lies (<i>Amorphophallus muelleri</i> Blume) <i>in vitro</i> Cultures] <i>Yuyu S Poerba, Aryani Leksonowati dan Diyah Martanti</i>	419
KANDUNGAN SELENIUM DALAM HERBA TERSELEKSIDARI DAERAH VULKANIS DAN AKTIVITAS GLUTATION PEROKSIDASE SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PENYUSUTAN SEL MODEL <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JB3505 [Selenium Content in Selected Herbs from Volcanic Area and its Functional Gluthathione Peroxidase and Cell Shrinkage Effect on <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JB3505] <i>Sri Hartin Rahaju</i>	427
EKSTRAK DAUN MINDI (<i>Melia azedarach</i>) SEBAGAI BIOINSEKTISIDA UNTUK PENGENDALIAN INFEKSI <i>Chrysomya bezziana</i> PADA DOMBA [Methanolic Extract of Mindi Leaf (<i>Melia azedarach</i>) as a Bioinsecticide for Controlling <i>Chrysomya bezziana</i> Infection in Sheep] <i>YulvianSani</i>	433
KEANEKARGAMAN FLORA ANGGREK (ORCHIDACEAE) DI CAGAR ALAM GUNUNG SIMPANG, JAWA BARAT (Floristic Study on the Orchids (Orchidaceae) in Gunung Simpang Nature Reserve, West Java] <i>Diah Sulistiarini</i>	447
PALMS DIVERSITY, COMPOSITION, DENSITY AND ITS UTILIZATION IN THE GUNUNG HALIMUN SALAK NATIONAL PARK, WEST JAVA-INDONESIA WITH SPECIAL REFERENCE TO THE KASEPUHAN CIPTAGELAR [Diversitas Palm, Komposisi, Densitas dan Pemanfaatannya di Taman Nasional Gunung Halimun-Salak dengan Referensi Khusus pada Kasepuhan Ciptagelar] <i>Wardah and JP Moge</i>	453

(-)-(2R,3S)-DIHIDROKUERSETIN, SUATU PRODUK BIOTRANSFORMASI
 (-)-EPIKATEKIN OLEH JAMUR ENDOFIT *Diaporthe* sp. E¹
 [(-)-(2R,3S)-Dihydroquercetin, a Biotransformation Product from (-)-Epicatechin
 by the Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. E]

Andria Agusta

Laboratorium Fitokimia, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
 Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911
 e-mail: bislunatin@yahoo.com

ABSTRACT

The endophytic fungus *Diaporthe* sp. E show a unique ability to biotransform (-)-epicatechin into (-)-(2R,3R,4R)-leucocyanidin in a semisynthetic medium. Extension of the incubation time gave a major product (-)-(2R,3S)-dihydroquercetin which was identified by spectroscopic methods.

Kata kunci: *Camellia sinensis*, jamur endofit, *Diaporthe* sp. E, biotransformasi. (-)-epikatekin, (-)-2R,3R,4R-leukosianidin, (-)-2R,3S- dihidrokuersetin.

PENDAHULUAN

Dalam duapuluh tahun belakangan ini, beberapa kelompok peneliti melaporkan bahwa jamur endofit memiliki keunikan untuk meniru metabolit yang diproduksi oleh tumbuhan inangnya. Stierle *et al.* (1993), melaporkan bahwa jamur endofit *Taxomyces andreanae* yang berasosiasi dengan tumbuhan *Taxus brevifolia* memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa taksol secara *in vitro* di laboratorium. Jamur endofit RJMEFOOI yang berasosiasi dengan tumbuhan *Notapodytesfoetida* dilaporkan mampu memproduksi kamtotesin di dalam medium semisintetik (Puri *et al.*, 2005). Di samping itu, jamur endofit juga dilaporkan memiliki kapabilitas untuk melakukan transformasi komponen kimia tumbuhan inangnya. Shibuya *et al.* (2003) melaporkan bahwa jamur endofit *Xylaria* sp. yang diisolasi dari *Chincona pubescence* dapat mengubah alkaloid kina menjadi turunan 1/V-oksida yang memiliki efek sitotoksik lebih rendah dibanding senyawa asal.

Agusta *et al.* (2006a) telah mengisolasi enam jenis fungi endofit yang berasosiasi dengan tanaman teh, *Camellia sinensis* (L.) O.K. (Theaceae). Salah satu di antara jamur endofit tersebut, yaitu *Diaporthe* sp. E dapat memproduksi metabolit bisantraknon, yaitu (+)-2,2'-episitokirin A dan (+)-1,P-bislunatin dalam medium cair *potato dextrose broth* (PDB) (Agusta *et al.*, 2006b). Di pihak lain, *Diaporthe* sp. E memperlihatkan kemampuan yang unik untuk mengubah senyawa

flavan-3-ol dari tanaman teh (Gambar 1) menjadi leukoantosianidin. Hal ini merupakan bukti bahwa jamur endofit dapat mengubah komponen kimia dari tumbuhan inangnya seperti yang dihipotesiskan sebelumnya (Agusta *et al.*, 2005). Hal yang tidak kalah menariknya adalah kenyataan bahwa jamur endofit *Diaporthe* sp. E tersebut memiliki reaksi biotransformasi selektif terhadap struktur ruang dari molekul substrat dengan konfigurasi 2R-fenil tersubstitusi yang merupakan tipe alami dari senyawa flavan-3-ol dalam tumbuhan teh. Jamur endofit ini tidak dapat melakukan reaksi oksidasi terhadap senyawa flavan dengan konfigurasi 2S-fenil tersubstitusi seperti (-)-galokatekin-3-O-galat (Agusta *et al.*, 2005) yang merupakan senyawa artefak yang terbentuk selama proses pemanasan daun teh atau produk-produk yang berasal dari teh (Wilkins *et al.* 1971).

Salah satu senyawa flavan-3-ol dari tanaman teh yang bisa ditransformasi oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. E adalah (-)-epikatekin. Penambahan



Gambar 1. Struktur kimia (-)-epikatekin, flavan-3-ol pada pada tanaman teh.

sejumlah larutan (-)-epikatekin ke dalam kultur medium *Diaporthe* sp. E yang telah berumur lima hari dapat menghasilkan (-)-2R,3R,4R-leukosianidin (Gambar 2) dalam 28 jam waktu inkubasi dengan kemampuan biotransformasi sebesar 39 % (Agusta *et al.*, 2005). Untuk mempelajari lebih lanjut tentang seberapa jauh jamur endofit *Diaporthe* sp. E dapat mengubah komponen kimia utama pada tumbuhan inangnya, maka dilakukan penelitian biotransformasi (-)-epikatekin oleh *Diaporthe* sp. E dengan perpanjangan waktu reaksi biotransformasi.

BAHAN DAN CARA KERJA

Reaksi Biotransformasi (-)-Epikatekin

Jamur endofit *Diaporthe* sp. E ditumbuhkan di dalam Erlenmeyer berukuran 500 ml yang berisikan 200 ml medium glukosa-ekstrak yeast-pepton (20 g glukosa, 1 g ekstrak yeast, 5 g peptone, 0.5 g K₂HPO₄, 0.5 g MgSO₄·7H₂O, 0.01 g FeSO₄·7H₂O, 1000 ml H₂O) pada *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 90 rpm. Setelah diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27 °C, 20 ml larutan steril (-)-epikatekin (2) dalam methanol (1 mg/ml) di tambahkan ke dalam medium tumbuh, dan selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 27 °C, 90 rpm. Reaksi biotransformasi dimonitor dengan jalan melakukan *sampling* 5 ml medium tumbuh, dan diekstraksi dengan etil asetat. Selanjutnya di analisis dengan KLT (SiO₂, CHCl₃:MeOH:H₂O = 6:4:1) dan penampak noda 5% vanilin dalam 10% H₂SO₄. Monitoring juga dilakukan dengan HPLC (TOSOH PD 8020) fasa terbalik yang menggunakan kolom CAPCELLPAK Phenyl SG-120 (250 x 4.6 mm) pada temperatur ruang dan dielusi secara gradien dengan 20 mM K₂HPO₄-CH₃CN dari 5% sampai 15% CH₃CN dalam waktu 40 menit dengan menggunakan detektor UV pada 210 nm.

Isolasi Produk Utama

Jamur endofit *Diaporthe* sp. E ditumbuhkan di dalam Erlenmeyer berukuran 500 ml yang berisikan 200 ml medium GYP, dan diinkubasi dengan kondisi yang sama dengan di atas. Setelah 5 hari, 20 ml larutan steril (-)-epikatekin dalam methanol (1 mg/ml) ditambahkan ke dalam medium tumbuh, dan selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 27 °C, 90 rpm selama 42 jam.

Kemudian seluruh medium tumbuh berikut miselia diekstraksi dengan etil asetat dan kemudian

dipekatkan dengan penguap putar untuk memberikan 47.3 mg ekstrak. Pemisahan dilakukan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan Sephadex LH-20 sebagai fasa diam dan MeOH sebagai fasa gerak dan dilanjutkan dengan pemurnian secara kromatografi kolom (SiO₂, dielusi dengan lapisan bawah dari campuran CHCl₃:MeOH:H₂O=65:35:10) dan 5.8 mg produk utama.

Penentuan Struktur Kimia Produk Utama

Struktur kimia produk utama ditentukan berdasarkan sifat karakter Fisikokimianya. Sifat fisikokimia yang ditentukan meliputi rotasi optik yang diukur dengan alat polarimeter digital (Jasco DIP-360) dengan konsentrasi 5.1 mg/ml di dalam metanol pada temperatur 26 °C dan panjang sel 50 mm. *Fast atomic bombardment mass spectrometry* (FAB-MS) diukur dengan menggunakan alat spektrometer masa JMS SX-102A. Spektrum infra red (IR) diukur dengan alat spektrofotometer Shimadzu FT-IR 8500 dengan plat KBr. Sedangkan spectrum ¹H- dan ¹³C-resonansi magnet inti (RMI) diukur dengan spektrometer JEOL JNM-Lambda 500 yang dioperasikan pada 500 MHz untuk ¹H dan 125 MHz untuk ¹³C di dalam pelarut d₆-aseton. Geseran kimia diberikan dalam skala (ppm) yang relatif terhadap tetrametilsilana (TMS, δ: 0) sebagai internal standar, dan konstanta kopling diberikan dalam satuan Herzt.

HASIL

Hasil monitoring reaksi biotransformasi (-)-epikatekin oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. E memperlihatkan bahwa pada 1 jam setelah penambahan substrat, belum terlihat adanya pemunculan puncak baru pada kromatogram HPLC (Gambar 2B). Pada waktu inkubasi 28 jam setelah penambahan substrat (Gambar 2C), sebagian besar (-)-epikatekin telah diubah menjadi (-)-2R,3R,4R-leukosianidin yang diidentifikasi menggunakan senyawa standar yang diperoleh dari proses biotransformasi sebelumnya (Agusta *et al.*, 2005a). 42 Jam setelah penambahan substrat, terlihat bahwa jumlah (-)-2R,3R,4R-leukosianidin mengalami penurunan yang diikuti oleh munculnya produk utama (Gambar 2D).

Untuk tujuan isolasi dan karakterisasi produk utama, jamur endofit *Diaporthe* sp. E ditumbuhkan di

dalam medium GYP dengan kondisi yang sama dengan di atas. Setelah tumbuh dan berkembang selama 5 hari, sebanyak 20 mg (-)-epikatekin dalam 20 ml MeOH ditambahkan ke dalam medium tumbuh dan diinkubasi kembali. Setelah 42 jam, seluruh medium tumbuh diekstraksi dengan etilasetat dan selanjutnya diuapkan dengan penguap putar sehingga diperoleh ekstrak kasar seberat 47.3 mg. Ekstrak yang diperoleh tersebut selanjutnya di pisahkan dengan kromatografi kolom gel (sephadex LH-20, MeOH) yang diikuti dengan proses pemurnian secara kromatografi kolom silika gel (di elusi dengan lapisan bawah dari campuran $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}=65:35:10$) untuk menghasilkan 5.8 mg produk utama. Spektrum FAB-MS memperlihatkan bahwa senyawa utama memiliki ion molekul ($[\text{M}+1]^+$) pada m/z 305 dengan formula molekul $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_7$. Spektrum ^1H -RMI dari produk utama (Tabel 1) memperlihatkan hilangnya sinyal proton 4-H dari (-)-epikatekin yang diikuti dengan pergeseran geseran kimia proton 3-H ke daerah *low field* (5.02 ppm) serta munculnya sinyal gugus hidroksi pada C-5 dengan geseran kimia 11.70 ppm. Pemunculan sinyal gugus hidroksi pada atom C-5 ini merupakan indikasi yang kuat terhadap keberadaan gugus karbonil yang bertetangga dan membentuk ikatan hidrogen (*chelation*) dengan gugus hidroksi tersebut. Keberadaan gugus karbonil pada produk utama ini juga ditunjang oleh munculnya sinyal dengan geseran kimia 198.1 ppm pada spektrum ^{13}C -RMI-nya dan serapan pada panjang gelombang 1630 cm^{-1} pada spektrum IR. Selanjutnya berdasarkan interpretasi spektrum HMQC dan HMBC, maka struktur kimia produk utama dielusidasi sebagai senyawa baru (-)-(2R,3S)-dihidrokuersetin.

PEMBAHASAN

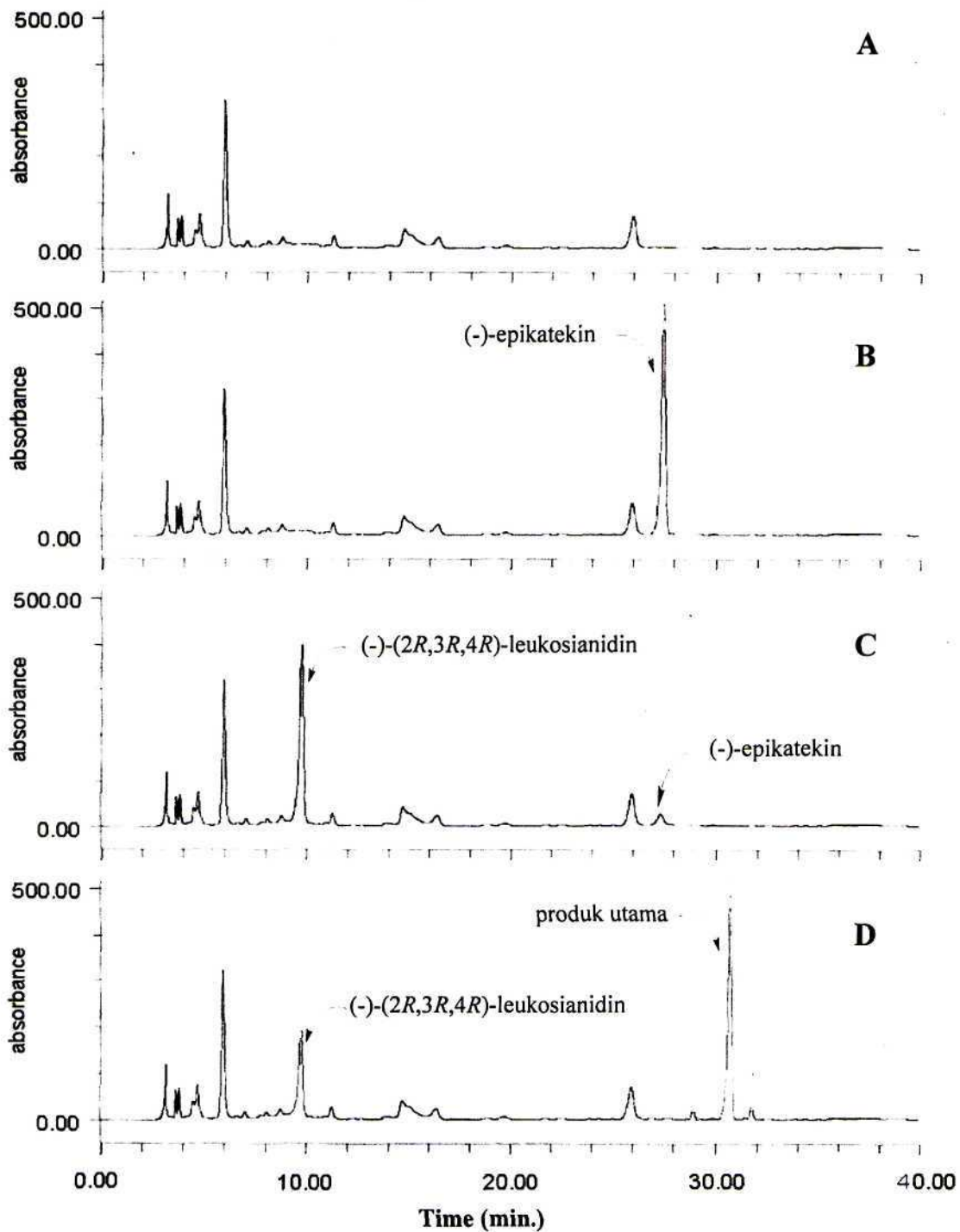
(+)-(2',3S)-dihidrokuersetin merupakan suatu senyawa yang tidak stabil jika terpapar cahaya, udara dan temperatur tinggi dalam beberapa jam. Senyawa ini akan dengan cepat mengalami perubahan warna, dan menunjukkan perubahan sifat fisikokimianya jika dibiarkan terbuka pada suhu kamar yang ditunjukkan oleh terjadinya perubahan pada pola spektrum ^1H -RMI (data tidak ditampilkan). Spektrum ^1H -RMI memperlihatkan bahwa terjadinya perubahan yang

sangat mencolok pada konstanta kapling (menjadi lebih besar) antara proton pada posisi C-2 dan C-3, yang mengindikasikan terjadinya perubahan struktur ruang pada posisi tersebut.

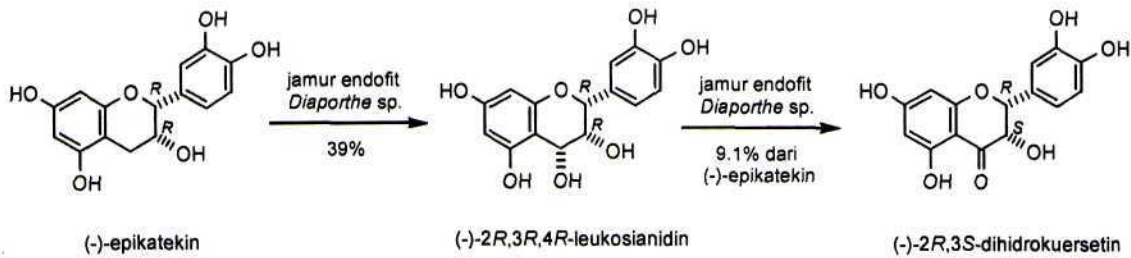
Di dalam sel-sel tumbuhan, dihidrokuersetin berperan sebagai senyawa antara dalam jalur biosintesis senyawa flavan-3-ol. Beberapa percobaan dengan menggunakan enzim yang diisolasi dari beberapa jenis tumbuhan, memperlihatkan bahwa (+)-(2',3')-dihidrokuersetin akan mengalami reaksi reduksi menjadi (+)-(2',3S,4S)-leukosianidin untuk membentuk (+)-katekin seperti terlihat pada Gambar 4 (Heller *et al.*, 1985; Stafford *et al.*, 1985; Tanner & Kristiansen, 1993; Punyasiri *et al.*, 2004). Di pihak lain, jalur biosintesis (-)-epikatekin belumlah terelusidasi dengan baik, walaupun secara teori Haslam (1975) telah memprediksi bahwa (-)-epikatekin dibiosintesis melalui (-)-(2',3fl,4')-leukosianidin. Kendala untuk mengidentifikasi senyawa antara pada jalur biosintesis (-)-epikatekin adalah karena tidak tersedianya senyawa prekursor yang ideal untuk membuktikan hipotesis yang dikemukakan oleh Haslam tersebut. Di pihak lain, melalui suatu percobaan dengan enzim yang diisolasi dari tanaman teh, Punyasiri *et al.* (2004) mengemukakan bahwa (-)-epikatekin dibiosintesis melalui senyawa antara sianidin, dan hal tersebut diklaim sebagai jawaban atas pertanyaan tentang prekursor senyawa (-)-epikatekin yang telah mengambang selama beberapa dasawarsa. Akan tetapi, dengan dihasilkannya (-)-(2R,3R,4R)-leukosianidin dan (-)-(2R,3S)-dihidrokuersetin oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. E telah membuka peluang untuk membuktikan kedua senyawa ini sebagai senyawa antara dari senyawa (-)-epikatekin seperti yang diusulkan oleh Haslam (1975).

KESIMPULAN

Jamur endofit *Diaporthe* sp. E yang diisolasi dari tanaman teh memiliki kemampuan untuk melakukan biotransformasi senyawa (-)-epikatekin menjadi (-)-(2R,3S)-dihidrokuersetin di dalam medium semisintetik. Senyawa (-)-(2R,3S)-dihidrokuersetin dipercaya sebagai senyawa antara (-)-ekatekin dan turunannya di dalam tumbuhan teh. Dengan berhasil ditemukan dan diisolasinya (-)-(2R,3S)-dihidrokuersetin akan membuka peluang membuktikan bahwa senyawa ini



Gambar 2. Kromatogram HPLC untuk medium reaksi biotransformasi (-)-epikatekin oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. E. A: sebelum penambahan substrat, B: 1 jam setelah penambahan substrat, C: 28 jam setelah penambahan substrat, D: 42 jam setelah penambahan substrat. Kondisi HPLC: CAPCELL PAK Phenyl SG-120 250 x 4.6 mm, rt, 20 mM KH_2PO_4 - CH_3CN (gradien: 0 menit, 5% CH_3CN 40 menit, 15% CH_3CN), 210 nm.



Gambar 3. Reaksi biotransformasi (-)-epikatekin oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. E.

Tabel 1. Data ^1H - dan ^{13}C -RMI produk utama reaksi biotransformasi

Atom	^{13}C -RMI	^1H -RMI
C2	84.2	5.01 (1H, d, $J=2.2$ Hz)
C3	73.2	4.61 (1H, d, $J=2.2$ Hz)
C4	198.1	
C4a	101.4	
C5	165.0	
C6	97.1	5.98 (1H, d, $J=2.1$ Hz)
C7	168.0	
C8	96.1	5.94 (1H, d, $J=2.1$ Hz)
C8a	164.1	
C1'	129.8	
C2'	115.7	7.07 (1H, d, $J=1.8$ Hz)
C3'	145.7	
C4'	146.5	
C5'	115.8	6.86 (1H, d, $J=7.9$ Hz)
C6'	120.8	6.91 (1H, dd, $J=1.8, 7.9$ Hz)
5-OH		11.75 (1H, brs)

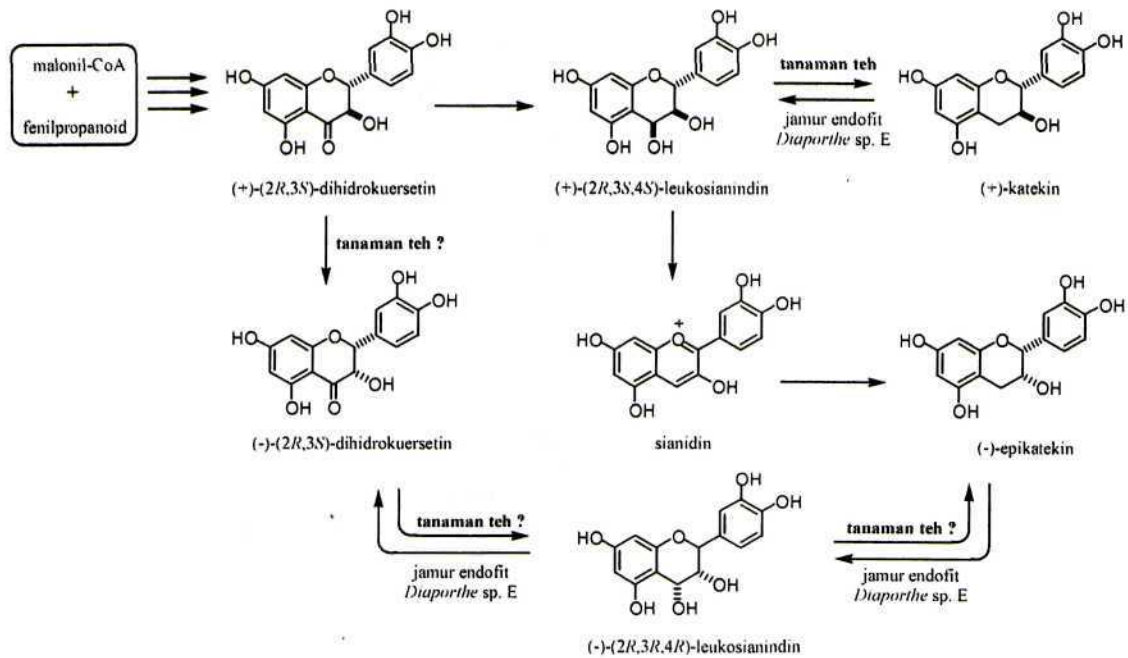
memang benar senyawa antara biosintesis (-)-epikatekin dengan menggunakan senyawa ini sebagai substrat bagi enzim yang bertanggungjawab terhadap biosintesis (-)-epikatekin pada tumbuhan teh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Di ucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Hirotaka Shibuya, Natural Product Chemistry Laboratory, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Fukuyama University, Fukuyama, Hiroshima, Jepang atas fasilitas yang diberikan untuk terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A, S Maehara, K Ohashi, P Simanjuntak and H Shibuya. 2005. Stereoselective oxidation at C-4 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53(12), 1565-1569.
- Agusta A, K Ohashi and H Shibuya. 2006. Composition of the endophytic filamentous fungi isolated from tea Plant *Camellia sinensis*. *Journal of Natural Medicines* 60(3). 268-272.
- Agusta A, K Ohashi and H Shibuya H. 2006b. Bisamhraquinone metabolites produce by the endophytic Fungus *Diaporthe* sp. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54 (4). 579-582.
- Haslam E. 1975. *Natural proanthocyanidins*. In: *The Flavonoids. Advances in the Research*, 417-446. JB Harborne, TJ Mabry (Eds). Chapman and Hall, London. .



Gambar 4. Kemungkinan jalur biosintesis (-)-epikatekin pada tanaman teh.

- Heller W, L Britsch, G Forkmann and H Grisebach. 1985. Leucocyanidins as intermediates in anthocyanidin biosynthesis in flower of *Matthiola incana* R. Br. *Planla* **163**, 191-196.
- Punyasiri PAN, ISB Abcysinghe, V Kumar, D Treutter, D Dur, C Gosch, S Martens, G Forkmann and TC Fischer. 2004. Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*; properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **431**, 22-30.
- Shibuya H, A Agusta, K Ohashi, S Maehara and P Simanjuntak. 2005. Biooxidation of (+)-catechin

and (-)-epicatechin into 3,4-dihydroxytiavan derivatives by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **53(7)**, 866-867.

- Stafford HA, HH Lester and LJ Potter. 1985. Chemical and enzymatic synthesis of monomeric procyanidins (leucocyanidins or 3",4",5,7-tetrahydroxyflavan-3,4-diols) from (2#,3/?)-dihydroquercetin. *Phytochemistry* **24(2)**, 333-338.

- Tanner GI and KN Kristiansen. 1993. Synthesis of 3,4-Cis-[³H]leucocyanidin and enzymatic reduction to catechin. *Analytical Biochemistry* **209**, 274-277.