

Aktivitas Antioksidan Kapang Endofit asal Rumput Laut *Caulerpa lentilifera*

Antioxidant Activity of Endophytic Fungi from Seaweed Caulerpa lentilifera

Eris Septiana*, Mutia Hardhiyuna, Febriana Untari, Bustanussalam, dan Siti Irma Rahmawati

Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Raya Bogor KM 46,
Cibinong, Bogor, 16911, Indonesia

*Korespondensi penulis : septiana.eris@gmail.com

Diterima: 01 April 2024; Direvisi: 22 April 2025; Disetujui: 26 Juni 2025

ABSTRAK

Aktivitas antioksidan dari ekstrak rumput laut telah banyak dilaporkan. Namun, belum banyak peneliti yang melaporkan aktivitas antioksidan dari kapang endofit asal rumput laut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit dari rumput laut *C. lentilifera*, mengevaluasi aktivitas antioksidan, serta profil senyawa kimia ekstrak terpilih. Isolasi kapang endofit dilakukan dengan metode sterilisasi permukaan dan ditanam pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Uji antioksidan menggunakan metode 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), dan ferric reducing antioxidant power (FRAP). Penentuan kadar fenolik dan flavonoid total masing-masing berdasarkan pada reaksi reagen Follin-Ciocalteu dan aluminium klorida. Ekstrak dengan aktivitas antioksidan terbaik dilakukan profiling senyawa kimianya menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM). Hasil isolasi didapatkan lima isolat kapang endofit yaitu Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, Cl.Tka.S3, Cl.Tka.R1, dan Cl.Tka.R2. Ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 memiliki aktivitas tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $17,65 \pm 1,88$ dan $37,07 \pm 2,16$ mg/L pada metode ABTS dan DPPH, serta uji FRAP dengan kadar setara Fe(II) sebesar $1654,15 \pm 32,95$ μ mol/mg ekstrak. Kadar fenolik total tertinggi didapatkan dari ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S1 sebesar $75,05 \pm 8,46$ mg setara asam galat/g ekstrak. Kadar flavonoid total tertinggi didapatkan dari ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 sebesar $38,50 \pm 1,55$ mg setara kuersetin/g ekstrak. Profiling senyawa kimia menunjukkan ekstrak isolat Cl.Tka.3 sebagai isolat terbaik mengandung senyawa antioksidan berupa senyawa golongan fenolik, asam lemak, alkana, dan alkohol.

KATA KUNCI: Kapang endofit, *Caulerpa lentilifera*, Antioksidan, Fenol, Flavonoid

ABSTRACT

The antioxidant activity of seaweed extracts has been widely reported. However, reports on the antioxidant activity of endophytic fungi derived from seaweed are still limited. This study aims to isolate endophytic fungi from *C. lentilifera*, determine antioxidant activity and chemical profiles of selected extracts. Endophytic fungi were isolated by the surface sterilization method and planted on *Potato Dextrose Agar* (PDA) media. Antioxidant test using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), dan ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. Total phenolic and flavonoid content was based on the reaction of Follin-Ciocalteu reagent and aluminium chloride, respectively. Extracts with the best antioxidant activity were profiled for their chemical compounds using Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). The isolation results obtained five isolates of endophytic fungi, namely Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, Cl.Tka.S3, Cl.Tka.R1, and Cl.Tka.R2. Cl.Tka.S3 extract had the highest activities with an IC_{50} value of 17.65 ± 1.88 and 37.07 ± 2.16 mg/L on the ABTS and DPPH methods, as well as FRAP test values with Fe(II) equivalent levels of 1654.15 ± 32.95 μ mol/mg extract. Cl.Tka.S1 extract has the highest total phenolic content of 75.05 ± 8.46 mg gallic acid equivalent/g extract. Cl.Tka.S3 extract has the highest total flavonoid content of 38.50 ± 1.55 mg quercetin equivalent/g extract. Profiling of chemical compounds showed that the Cl.Tka.S3, as the best extract, contained antioxidant compounds such as phenolic compounds, fatty acids, alkane, and alcohol.

KEYWORDS: Endophytic fungi, *Caulerpa lentilifera*, Antioxidant, Phenolic, Flavonoid

PENDAHULUAN

Kondisi lingkungan yang terus menurun akibat polusi berdampak buruk bagi kesehatan, salah satunya adalah semakin banyak terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas ini dapat meningkatkan patogenisitas beberapa penyakit akibat meningkatnya stress oksidatif (Sitorus et al., 2017). Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan alami dalam menangkal terbentuknya radikal bebas dengan menghasilkan senyawa antioksidan (Khani et al., 2017). Namun, ketidakseimbangan antara terbentuknya radikal bebas dan kemampuan antioksidan alami tubuh menyebabkan perlu adanya asupan antioksidan tambahan, salah satunya antioksidan sintetik. Akhir-akhir ini penggunaan antioksidan sintetik telah dilaporkan menimbulkan efek samping, sehingga perlu dicari sumber antioksidan dari alam (Rico et al., 2013).

Salah satu sumber senyawa antioksidan dari alam adalah kapang. Kapang merupakan organisme multiseluler yang membentuk hifa mikroskopis yang bergabung menjadi struktur miselium dan bereproduksi dengan spora (Lunggani et al., 2023). Kapang dapat hidup pada kondisi lingkungan yang luas sebagai dekomposer pada jaringan tanaman yang telah mati maupun bersimbiosis di dalam jaringan tanaman yang hidup di tanah, air tawar, sedimen, maupun air laut (Lunggani et al., 2023; Purwati et al., 2024). Kapang yang bersimbiosis dengan makroalga *Sargassum* sp. dan *Gracilaria* sp. asal teluk Bengal di Bangladesh dilaporkan mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang diduga bertanggung jawab pada aktivitas antioksidannya (Noor et al., 2024). Makroalga air laut genus *Caulerpa* yang berasal dari Pulau Karimun Jawa, Indonesia, juga dilaporkan bersimbiosis mutualisme dengan kapang endofit (Purwati et al., 2024).

Caulerpa merupakan salah satu genus rumput laut dari keluarga Caulerpaceae yang dapat ditemukan di seluruh dunia dengan jenis habitat di perairan dangkal tropis dan laut subtropis. *Thallus* makroalga *Caulerpa* terdiri dari *stolon* horizontal yang dihubungkan oleh *rhizoid* yang tidak berwarna, menghubungkan tegakan daun fotosintesis yang memiliki beragam bentuk tangkai *ramuli*, diantaranya seperti spons, seperti benang, menyirip, seperti pisau dan vesicular (Rushdi et al., 2020). *C. lentillifera* merupakan salah satu jenis dari genus *Caulerpa* komersial yang biasanya ditanam di tambak dan dijadikan sebagai bahan konsumsi di Filipina, Indonesia, dan Vietnam (Chen et al., 2019). Makroalga *C. lentillifera* telah dilaporkan

memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan dalam membatasi perkembangan MRSA *E. coli* K1 neuropatogenik (Yap et al., 2019). Kemampuan ini diharapkan juga dimiliki oleh kapang endofit yang hidup dalam jaringan *C. lentillifera*.

Kapang endofit merupakan kapang yang hidup pada jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan penyakit serta dapat membentuk simbiosis mutualisme (Nicoletti & Fiorentino, 2015). Kapang endofit yang terkandung dalam *C. lentillifera* diperkirakan memiliki aktivitas antioksidan yang sama dengan inangnya. Hal ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa kapang endofit memiliki kandungan senyawa polifenol yang tinggi (Yadav et al., 2014), dimana senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kapang endofit dari divisi Ascomycota yang didominasi oleh genus *Aspergillus* telah berhasil diisolasi dari *C. lentillifera*. Lebih lanjut kapang ini diduga membentuk senyawa antioksidan sehingga membantu tanaman inang dalam menghadapi cekaman biotik seperti infeksi patogen (Liang et al., 2019).

Perkembangan penelitian tentang pemanfaatan kapang endofit asal makroalga terutama genus *Caulerpa* di Indonesia masih sedikit yang telah dilaporkan dan masih terfokus pada aktivitas antibakterinya. Kapang endofit yang diisolasi dari makroalga *C. racemosa* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* penyebab penyakit pada udang (Purwati et al., 2024). Penelitian lain juga melaporkan kapang endofit asal makroalga *Caulerpa* spp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis* (Lunggani et al., 2023). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit dari makroalga *C. lentillifera*, menentukan aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total, serta profil senyawa kimia ekstrak kapang endofit terpilih.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian berupa rumput laut (*Caulerpa lentillifera*) segar diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Takalar, Sulawesi Selatan, Indonesia. Bahan kimia dan penunjang lainnya yang digunakan antara lain *Potato Dextrose Agar* (Difco), *Potato Dextrose Broth* (Difco), kloramfenikol (Sigma), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)

(Sigma), potasium peroksodisulfat (Merck), kuersetin (Sigma), etanol pro analisis (Merck), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), asam askorbat (Sigma), metanol pro analisis (Merck), sodium asetat (Merck), 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) (Sigma), HCl (Merck), besi (III) klorida heksahidrat (FeCl_3) (Merck), besi (III) sulfat heptahidrat (FeSO_4) (Merck), asam galat (Sigma), Follin-Ciocalteu (Sigma), sodium karbonat (Merck), sodium asetat (Merck), aluminium klorida (Merck), metanol LC grade (Merck).

Alat yang digunakan antara lain Inkubator pengocok (Thermolyne, ROSI 1000), Autoklaf (Tomy, ES-315), spektrofotometer UV-VIS (Hitachi, U-3900H), *cuvette* quartz 1,5 mL (Hellma), timbangan analitik (Precisa, 204A), penguap putar hampa udara (Stuart, RE300DB), inkubator (Grant, SE15), mikropipet (Axygen), and *Laminar Air Flow* (ESCO, Airstream E-Series), GCMS (Shimadzu GC2010/MS QP2010) dengan kolom RTX-5MS.

Metode

Isolasi kapang endofit

Sampel segar *C. lentilifera* dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan dari kotoran dan materi lain yang masih menempel dan selanjutnya dikeringanginkan di suhu ruang menggunakan kertas saring steril. Sampel *C. lentilifera* kemudian dipotong menjadi beberapa bagian dengan panjang sekitar 3 cm untuk bagian stolon atau satu tangkai ramuli yang selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan. Isolasi kapang endofit mengikuti metode sterilisasi permukaan (Tomita, 2003). Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam *C. lentilifera* dalam etanol 70 % selama 10 detik, natriumhipoklorida 2 % selama 20 detik, dan etanol 70 % selama 10 detik. Seluruh sampel dikeringkan di atas kertas saring steril di dalam laminar. Sampel bagian stolon kemudian dipotong sepanjang 1 cm dan bagian ramuli masing-masing dipisahkan dari tangkainya untuk kemudian diletakkan di atas media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan 50 mg/L kloramfenikol dalam akuades di dalam cawan Petri (diameter 9 cm). Cawan Petri kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C. Seluruh koloni kapang yang tumbuh kemudian dibedakan berdasarkan karakter morfologi makroskopisnya dan kemudian dimurnikan dengan cara mengambil sekelumit hifa dan ditanam pada media PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 48-72 jam. Pengkodean isolat berdasarkan nama inang (CI= *Caulerpa lentilifera*), asal lokasi inang (Tka= Takalar), bagian inang (S= stolon, R= ramuli)

dan urutan pemurnian isolat selama proses isolasi. Karakter morfologi makroskopis meliputi bentuk pertumbuhan koloni, warna permukaan dan warna sebalik, karakter permukaan koloni, ada tidaknya cincin konsentris dan alur radial, dan ada tidaknya tetesan eksudat. Koloni yang murni dan tumbuh baik selanjutnya ditanam pada media PDA miring sebanyak tiga ulangan dengan menambahkan kode isolat serta disimpan pada suhu 4 °C.

Fermentasi dan ekstraksi kapang endofit

Isolat kapang endofit yang telah berumur 7 hari kemudian diambil dengan cara dilubangi dengan pelubang steril berdiameter 6 mm dan diambil sebanyak 2 buah untuk difermentasi dalam media *Potato Dextrose Broth* (PDB) volume 100 mL selama 14 hari. Fermentasi dilakukan di atas pengaduk dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Setelah total 14 hari fermentasi filtrat dan biomasa kapang endofit diekstraksi dengan 100 mL etil asetat sebanyak 3 kali dalam corong pisah (Salini et al., 2015). Fase etil asetat kemudian digabungkan dan dipekatkan menggunakan labu penguap putar hampa udara sampai diperoleh ekstrak kering pekat.

Uji antioksidan

Metode ABTS

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan senyawa ABTS berdasarkan (Re et al., 1999). Konsentrasi larutan uji sebesar 10, 20, 40, 80, dan 160 µg/mL. Konsentrasi kuersetin dan asam galat sebagai baku pembanding sebesar 0,5; 1,25; 2,5; 5; dan 10 µg/mL. Seluruh sampel larutan uji, baku pembanding, dan blanko (tanpa larutan uji maupun kuersetin) dibuat sebanyak tiga kali ulangan lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Serapan seluruh sampel, baku pembanding, dan blanko kemudian diukur pada panjang gelombang 734 nm. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan (1) dan nilai IC_{50} yang merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% diperoleh dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % aktivitas antioksidan (sumbu y).

$$\% \text{ Hambat} = \frac{A - B}{A} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

A = serapan blanko

B = serapan sampel

Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan metode peredaman radikal bebas senyawa DPPH didasarkan pada (Tiwari et al., 2006) dengan modifikasi pada panjang gelombang dari 515 nm menjadi 517 nm. Konsentrasi larutan uji ekstrak etil asetat kapang endofit dalam metanol sebesar 25; 50; 100; 200; dan 400 µg/mL. Konsentrasi kuersetin dan asam galat sebagai baku pembanding sebesar 0,5; 1,25; 2,5; 5; dan 10 µg/mL serta DPPH 0,4 mM sebagai blanko. Seluruh sampel larutan uji, baku pembanding, dan blanko (tanpa larutan uji maupun kontrol positif) dibuat sebanyak tiga kali ulangan lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Serapan seluruh sampel, baku pembanding, dan blanko kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Hambat} = \frac{A - B}{A} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

A = serapan blanko

B = serapan sampel

Metode FRAP

Uji aktivitas antioksidan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) dilakukan sesuai dengan prosedur (Li et al., 2008). Secara singkat, reagen FRAP dibuat dari buffer natrium asetat (300 mmol/L, pH 3,6), larutan TPTZ 10 mmol/L dalam larutan HCl 40 mmol/L dan larutan FeCl₃ 20 mmol/L masing-masing dengan perbandingan 10:1:1 (v/v). Lima puluh mikroliter sampel ditambahkan ke dalam 1,5 mL reagen FRAP yang dihangatkan pada suhu 37 °C. Campuran dibuat sebanyak tiga kali ulangan lalu absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm setelah inkubasi 4 menit. Larutan FeSO₄ (100–2000 mmol/L) digunakan sebagai kurva standar. Hasilnya pengukuran dinyatakan sebagai mmol Fe(II)/g berat kering ekstrak.

Uji kadar fenolik dan flavonoid total

Konsentrasi larutan uji ekstrak etil asetat kapang endofit dalam etanol sebesar 1000 µg/mL. Untuk uji kadar fenolik total, larutan standar asam galat dalam akuades sebagai kurva baku standar dibuat seri konsentrasi sebesar 10; 25; 50; 100; dan 200 µg/mL. Sebanyak 20 µL ekstrak (sampel uji) dan asam galat (kontrol) dimasukkan ke dalam *96-well microplate* dan masing-masing ditambahkan 100 µL pereaksi Follin-Ciocalteu 0,2 N. Setelah inkubasi selama 5 menit, campuran kemudian ditambahkan

80 µL sodium karbonat 7,5 %. Campuran dibuat tiga kali ulangan dan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 120 menit. Serapan campuran diukur pada panjang gelombang 760 nm. Kadar fenol total diekspresikan sebagai mg setara asam galat tiap gram ekstrak kering (Sekhon-Loodu & Rupasinghe, 2019).

Untuk uji kadar flavonoid total, larutan standar kuersetin dalam etanol sebagai kurva baku standar dibuat seri konsentrasi sebesar 1; 2,5; 5; 10; dan 25 µg/mL. Sebanyak 50 µL ekstrak (sampel uji), kuersetin (kontrol), dan etanol (blanko) dimasukkan ke dalam *96-well microplate* dan masing-masing ditambahkan 10 µL aluminium klorida 10 %, 150 µL etanol absolut dan 10 µL sodium asetat 1 M. Campuran dibuat tiga kali ulangan dan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 40 menit. Serapan campuran diukur pada panjang gelombang 415 nm. Kadar flavonoid total diekspresikan sebagai mg setara kuersetin tiap gram ekstrak kering (Chatatikun & Chiabchalard, 2013).

Profiling metabolit sekunder dari kapang endofit

Ekstrak etil asetat kapang endofit dengan aktivitas antioksidan tertinggi dilanjutkan dengan analisis menggunakan KG-SM. Ekstrak potensial kapang endofit asal dilarutkan dengan metanol LC grade pada konsentrasi 100 µg/mL. Sebanyak 1 µL larutan ekstrak diinjeksikan ke dalam KG-SM Shimadzu GC2010/MS QP2010 dengan kolom RTX-5MS (30m x 0,15 mm ID x 0,25 µm), metode ionisasi menggunakan *Electron Impact* (EI) dan *Negative Chemical Ionization* (NCI) (Rahmawati et al., 2020). Kondisi alat KG-SM ditampilkan pada Tabel 1.

Analisis data

Data aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* ($\alpha = 0,05$) dan jika terdapat perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

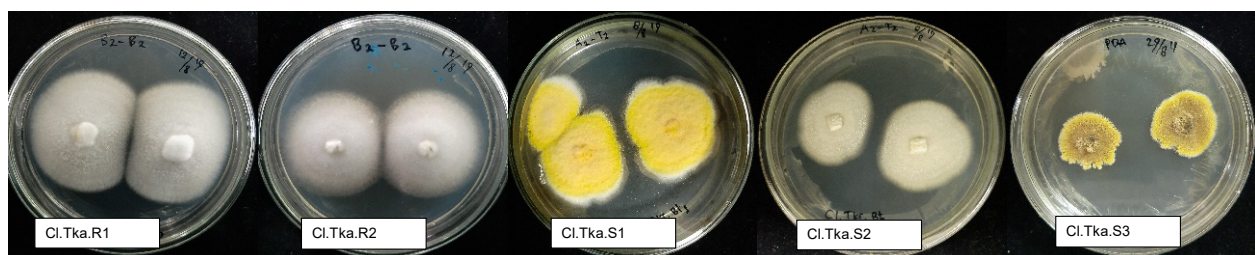
Isolat Kapang Endofit

Isolasi kapang endofit dari bagian ramuli (bentukan bulat seperti anggur) dan stolon (bagian memanjang yang tidak ditumbuhi ramuli) (Gambar 1) didapatkan lima isolat. Dua isolat yaitu Cl.Tka.R1 dan Cl.Tka.R2 dari bagian ramuli serta tiga isolat yaitu Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, dan Cl.Tka.S3 dari

Tabel 1. Kondisi alat KG-SM yang digunakan

Table 1. The condition of the GCMS instrument used

Suhu oven kolom/ <i>Column oven temperature</i>	60 °C	Program suhu oven/ <i>Oven temperature program</i>	60 °C 2 menit/ <i>minute</i>
Suhu injeksi/ <i>Injection temperature</i>	230 °C		15 menit sampai/ <i>minute increased to</i> 325 °C
Tekanan/ <i>Pressure</i>	68.4 kPa		325 °C 6 menit/ <i>minute</i>
Aliran total/ <i>Total flow</i>	27 mL.menit ⁻¹ / mL.minute ⁻¹	Suhu sumber ion/ <i>Ion source temperature</i>	200 °C
Aliran kolom/ <i>Column flow</i>	1.14 mL.menit ⁻¹ / mL.minute ⁻¹	Suhu antarmuka/ <i>Interface temperature</i>	250 °C
Kecepatan linier/ <i>Linier velocity</i>	39.0 cm.detik ⁻¹ / cm.second ⁻¹	Sumber gas/ <i>Gas sources</i>	Helium
Aliran pembersihan/ <i>Purge flow</i>	3 mL.menit ⁻¹ / mL.minute ⁻¹		

Gambar 1. Rumput laut *Caulerpa lentilifera*Figure 1. *Caulerpa lentilifera* seaweedGambar 2. Penampakan makroskopis isolat kapang endofit asal rumput laut *Caulerpa lentilifera*Figure 2. Macroscopic appearance of endophytic fungi isolates derived from *Caulerpa lentilifera* seaweed

bagian stolon (Gambar 2). Karakter makroskopis tersebut digunakan untuk memilah isolat kapang endofit yang diperoleh dan sebagai tahapan awal untuk membedakan antar isolat. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan secara mikroskopis karena fokus pada kemampuan ekstrak isolat kapang endofit sebagai sumber senyawa antioksidan. Isolat

kemudian disimpan sebagai stok dalam media PDA dalam tabung reaksi.

Sebanyak lima isolat kapang endofit berhasil diisolasi dari bagian stolon dan ramuli *C. lentilifera*. Dalam satu jaringan inang dapat ditemukan lebih dari satu isolat kapang endofit. Hal ini karena jaringan tanaman merupakan habitat mikroba yang berlapis,

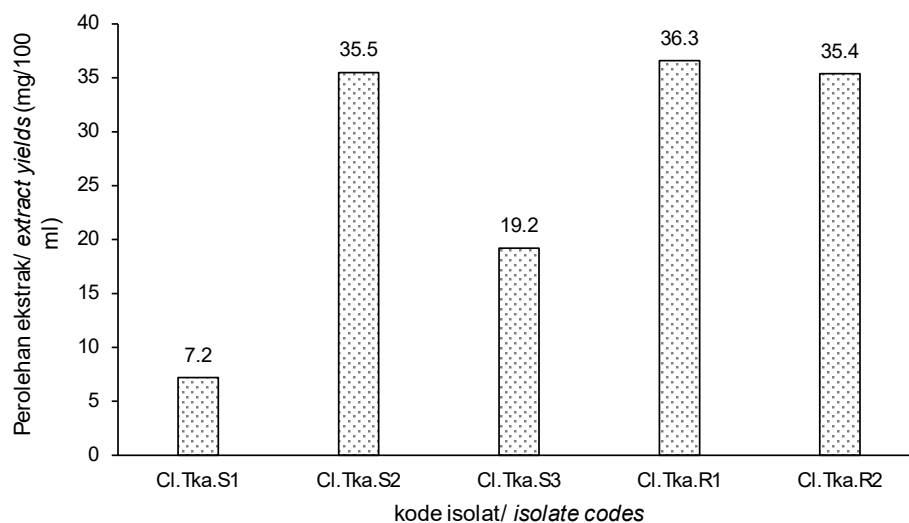
beragam secara spasial sehingga mendukung tumbuhnya mikrobiota endofit yang kaya dan beragam (Sun & Guo, 2012). Isolat yang diperoleh merupakan hasil dari pemilahan berdasarkan karakter makroskopisnya. Karakter makroskopis merupakan tahap awal yang dapat digunakan untuk membedakan kapang endofit berdasarkan jenisnya (Demeni et al., 2025). Isolat Cl.Tka.R1 dan Cl.Tka.R2 memiliki pola pertumbuhan yang melingkar teratur dengan tepian dari isolat Cl.Tka.R2 lebih padat. Isolat Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, dan Cl.Tka.S3 memiliki pola pertumbuhan miselium yang tidak melingkar sempurna. Warna koloni permukaan isolat Cl.Tka.R1 dan Cl.Tka.R2 berwarna putih, sedangkan isolat Cl.Tka.S2 berwarna putih kekuningan. Isolat Cl.Tka.S1 dan Cl.Tka.S3 masing-masing memiliki permukaan koloni berwarna kuning cerah dengan tepian putih dan kuning kecoklatan dengan tepian kuning. Warna sebalik isolat Cl.Tka.R1, Cl.Tka.R2, dan Cl.Tka.S2 adalah putih kemerahan di bagian pusat. Isolat Cl.Tka.S1 dan Cl.Tka.S3 masing-masing memiliki warna sebalik koloni kuning cerah dan kuning kecoklatan di bagian pusat. Isolat Cl.Tka.R1 dan Cl.Tka.R2 permukaan koloni seperti kapas, sedangkan isolat Cl.Tka.S2 seperti bludru. Isolat Cl.Tka.S1 permukaan koloninya seperti tepung halus sedangkan isolat Cl.Tka.S3 permukaan koloninya seperti tepung kasar. Seluruh isolat memiliki alur lingkaran konsentris, tanpa garis radial dan tetes eksudat yang terbentuk.

Fermentasi dan ekstraksi kapang endofit

Gambar 3 menunjukkan bahwa perolehan ekstrak etil asetat kapang endofit berkisar antara 7,2 – 36,3 mg/100 mL. Perolehan ekstrak yang berbeda

dari masing-masing isolat dapat disebabkan oleh perbedaan kemampuan masing-masing kapang endofit dalam menghasilkan metabolit sekunder ekstraseluler yang dilepaskan ke lingkungannya. Oleh karena itu, metabolit sekunder ekstraseluler dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi filtratnya sebagai media pertumbuhan kapang endofit (Bustanussalam et al., 2015). Pemilihan pelarut untuk ekstraksi bergantung pada sifat senyawa bioaktif yang diinginkan. Etil asetat, yang digunakan sebagai pelarut ekstraksi dalam penelitian ini, memiliki polaritas sedang dengan indeks polaritas 4,4. Pelarut ini memiliki toksisitas rendah terhadap kapang endofit dan efek ringan pada sel biologis (Makky et al., 2021). Ketika media cair fermentasi dicampur dengan 100% etil asetat dalam corong pemisah, dua lapisan berbeda terbentuk karena etil asetat tidak bercampur dengan air, sehingga dapat mengekstrak senyawa dari fase air. Selain itu, tingginya perolehan ekstrak etil asetat kapang endofit Cl.Tka.R1 juga dapat disebabkan oleh tingginya kandungan senyawa semi polar dan sedikit non polar seperti minyak yang tertarik saat diekstraksi dengan etil asetat. Oleh karena itu, selain kandungan metabolit sekunder, kandungan senyawa seperti minyak juga dapat mempengaruhi perolehan ekstrak etil asetat kapang endofit (Rahmawati et al., 2020).

Prose pengocokan pada tahap fermentasi media cair bertujuan untuk mempertahankan aerasi dan agitasi. Aerasi diperlukan untuk mencukupi kebutuhan oksigen kapang endofit sementara agitasi atau pengadukan bertujuan untuk meningkatkan suplai oksigen dalam medium serta untuk menjaga keseragaman suhu (Kumala & Pratiwi, 2014).



Gambar 3. Perolehan ekstrak kapang endofit asal *C. lentilifera*
 Figure 3. Yield of endophytic fungi extracts derived from *C. lentilifera*

Proses pengocokan juga akan mengakibatkan isolat berbentuk bulat ketika tumbuh dalam media fermentasi cair. Warna miselium kapang endofit yang ditumbuhkan pada media cair identik dengan warna ketika ditumbuhkan pada media agar. Isolat Cl.Tka.R1 dan R2 memiliki miselium berwarna putih, isolat Cl.Tka.S1 dan S3 berwarna kuning, sedangkan isolat Cl.Tka.S2 berwarna putih kekuningan.

Uji Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa semua ekstrak etil asetat dari isolat kapang endofit memiliki aktivitas antioksidan (Tabel 2). Pada uji antioksidan metode ABTS dan FRAP, masing-masing ekstrak isolat kapang endofit berbeda signifikan satu sama lain. Hasil yang sedikit berbeda didapatkan pada uji antioksidan metode DPPH dimana ekstrak isolat Cl.Tka.S1 dan Cl.Tka.S2 tidak berbeda secara signifikan namun berbeda signifikan dengan ekstrak kapang endofit lainnya. Hasil pengujian juga menunjukkan bahwa ekstrak kapang endofit Cl.Tka.R1 memiliki aktivitas antioksidan paling rendah pada ketiga metode uji yang ditunjukkan dengan nilai statistik yang signifikan dari ekstrak lainnya. Ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dan secara statistik juga berbeda signifikan dengan ekstrak lainnya pada ketiga metode uji. Tinggi dan rendahnya aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} pada metode uji ABTS dan DPPH, dimana semakin kecil nilainya maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Olugbami et al., 2014). Pada metode uji FRAP, aktivitas antioksidan semakin tinggi seiring dengan semakin tingginya kadar kesetaraan Fe(II) yang terbentuk.

Aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit asal *C. lentilifera* memiliki nilai yang berbeda baik di antara isolat dalam setiap metode maupun pada masing-masing isolat dengan metode yang berbeda. Hal ini dapat terjadi karena beberapa hal, seperti jenis isolat, komposisi senyawa kimia pada masing-masing isolat, mekanisme aksi dari masing-masing metode antioksidan yang digunakan, maupun jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Jenis isolat sebagai sumber senyawa antioksidan sangat berpengaruh pada aktivitas antioksidannya. Isolat Cl.Tka.S3 secara umum memiliki aktivitas antioksidan terbaik dan isolat Cl.Tka.R1 memiliki aktivitas antioksidan terendah. Hal ini dikarenakan komposisi senyawa terutama kadar senyawa fenolik dan flavonoid sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya (Khelouf et al., 2023).

Mekanisme aksi antioksidan dari suatu metode dengan metode yang lainnya juga berpengaruh terhadap nilai aktivitas antioksidan suatu bahan. Secara garis besar terdapat 3 mekanisme aksi antioksidan dari suatu bahan. Pertama adalah transfer atom hidrogen, transfer elektron, dan perpaduan keduanya. Metode FRAP memiliki mekanisme aksi berupa transfer elektron, sedangkan metode DPPH dan ABTS memiliki mekanisme aksi perpaduan antara transfer atom hidrogen dan transfer elektron (Echegaray et al., 2021). Selain itu, senyawa antioksidan dapat bereaksi secara berbeda terhadap senyawa radikal atau oksidan yang berbedasehingga memungkinkan nilai aktivitas antioksidan suatu bahan dapat berbeda.

Faktor selanjutnya yang mempengaruhi nilai aktivitas antioksidan adalah jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pada penelitian ini

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit asal rumput laut *Caulerpa lentilifera*

Table 2. Antioxidant activity of endophytic fungi extracts derived from *Caulerpa lentilifera* seaweed

No.	Sampel/ Samples	Aktivitas antioksidan/ Antioxidant activity		
		ABTS	DPPH	FRAP
		IC_{50} (mg/L) $\pm$ SD	IC_{50} (mg/L) $\pm$ SD	kadar setara Fe(II) (μ mol/mg ekstrak)/ Fe(II) equivalent (μ mol/mg extract) $\pm$ SD
1	Cl.Tka.R1	208.61 ^d $\pm$ 7.14	801.87 ^e $\pm$ 16.28	151.90 ^a $\pm$ 0.07
2	Cl.Tka.R2	113.03 ^c $\pm$ 2.99	78.82 ^b $\pm$ 4.42	809.00 ^d $\pm$ 23.55
3	Cl.Tka.S1	97.60 ^b $\pm$ 2.84	181.88 ^c $\pm$ 8.07	406.05 ^c $\pm$ 17.96
4	Cl.Tka.S2	90.25 ^b $\pm$ 4.13	209.39 ^d $\pm$ 18.73	247.75 ^b $\pm$ 67.32
5	Cl.Tka.S3	17.65 ^a $\pm$ 1.88	37.07 ^a $\pm$ 2.16	1654.15 ^e $\pm$ 32.95

Keterangan/ Note: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$) / Numbers followed by the same letter in the same column indicate no significant difference in Duncan's test ($\alpha = 0.05$).

digunakan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut semipolar. Hasil penapisan senyawa kimia menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 terdapat asam lemak. Metode ABTS merupakan metode yang secara umum sesuai untuk senyawa-senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik (Echegaray et al., 2021) sehingga diduga hal inilah yang menyebabkan aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit *C. lentilifera* memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah pada metode ABTS dibanding dengan metode DPPH.

Kekuatan aktivitas antioksidan dapat dikategorikan menjadi beberapa kategori yaitu kategori sangat aktif ($IC_{50} < 10$ mg/L), aktif ($IC_{50} < 100$ mg/L), dan kurang aktif ($IC_{50} > 100$ mg/L) (Minami et al., 1994). Pada pengujian antioksidan digunakan baku pembanding berupa kuersetin dan asam galat. Baku pembanding digunakan untuk mengetahui apakah reaksi yang dilakukan dapat berlangsung sesuai teori. Pada uji antioksidan ABTS, baku pembanding kuersetin dan asam galat menunjukkan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 1,93 dan 0,74 mg/L. Nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan pada metode DPPH dimana nilai IC_{50} kuersetin dan asam galat masing-masing sebesar 4,01 dan 2,13 mg/L. Hal yang sama juga terlihat pada aktivitas antioksidan sampel ekstrak kapang endofit, dimana pada metode ABTS memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan metode DPPH. Pada metode ABTS, aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, dan Cl.Tka.S3 tergolong aktif karena nilai IC_{50} ketiga ekstrak < 100 mg/L. Sedangkan ekstrak kapang endofit Cl.Tka.R1 dan Cl.Tka.R2 tergolong kurang aktif karena nilai IC_{50} kedua ekstrak > 100 mg/L. Pada metode DPPH, aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 dan Cl.Tka.R2 tergolong aktif karena nilai IC_{50} ketiga ekstrak < 100 mg/L. Ekstrak kapang endofit Cl.Tka.R1, Cl.Tka.R3 dan Cl.Tka.S2 tergolong kurang aktif karena nilai IC_{50} kedua ekstrak > 100 mg/L.

Ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, Cl.Tka.S3 dan Cl.Tka.R2 menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tanaman inangnya baik dengan metode DPPH maupun ABTS. Pada metode ABTS, ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, Cl.Tka.S3, dan Cl.Tka.R2 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan air rumput laut *C. lentilifera* dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 146,69 dan 820 mg/L (Hapsari et al., 2023). Pada metode DPPH, ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan

ekstrak etanol rumput laut *C. lentilifera* dengan nilai IC_{50} sebesar 47,61 mg/L (Nufus et al., 2017).

Kadar Fenolik dan Flavonoid Total

Aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit berkaitan dengan komposisi senyawa kimianya. Beberapa senyawa kimia pada kapang endofit yang aktif sebagai antioksidan adalah fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat pada beberapa kapang endofit dari tanaman *Calotropis procera*, berperan sebagai antioksidan (Nagda et al., 2017).

Kandungan fenolik tertinggi didapatkan pada ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S1 meskipun secara statistik tidak berbeda nyata dengan ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 dan Cl.Tka.R2. Kadar flavonoid total tertinggi didapatkan pada ekstrak kapang endofit Cl.Tka.S3 yang berbeda nyata dengan ekstrak lainnya (Tabel 3). Hasil tersebut sejalan dengan hasil aktivitas antioksidan, dimana ekstrak isolat Cl.Tka.S3, Cl.Tka.S1, dan Cl.Tka.R1 merupakan tiga ekstrak dengan aktivitas tertinggi (Tabel 2). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan memiliki kaitan erat dengan kadar fenolik dan flavonoid total. Semakin tinggi kandungan total fenolik dan flavonoid maka aktivitas antioksidannya akan semakin tinggi (Esmaeili et al., 2015).

Kadar fenolik (dalam mg setara asam galat/g ekstrak) dan flavonoid total (dalam mg setara kuersetin/g ekstrak) dalam ekstrak kapang endofit dapat dikategorikan ke dalam beberapa tingkatan. Ekstrak kapang endofit dengan kadar fenolik total < 20 mg/g dikategorikan dalam kategori rendah, 20-40 mg/g dalam kategori sedang, dan > 40 mg/g dalam kategori tinggi. Ekstrak kapang endofit dengan kadar flavonoid total < 15 mg/g dikategorikan dalam kategori rendah, 15-30 mg/g dalam kategori sedang, dan > 30 mg/g dalam kategori tinggi (Zohri et al., 2017). Oleh karena itu, kadar fenolik total seluruh ekstrak kapang endofit pada penelitian ini tergolong tinggi karena kandungan kadar fenolik total > 40 mg/g. Kandungan flavonoid total ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3 masuk dalam kategori tinggi, sedangkan ekstrak isolat Cl.Tka.S1 masuk dalam kategori sedang. Ketiga ekstrak isolat yang lain masuk dalam kategori rendah.

Kadar fenolik dan flavonoid total tertinggi pada ekstrak isolat kapang endofit pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kloroform dan metanol *C. lentilifera* yang masing-masing memiliki kadar fenolik dan flavonoid total sebesar 5,47 mg setara asam galat/g ekstrak dan 4,93 mg setara

Tabel 3. Kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak kapang endofit asal rumput laut *Caulerpa lentilifera*Table 3. Total phenolic and flavonoid content of endophytic fungi extracts derived from *Caulerpa lentilifera* seaweed

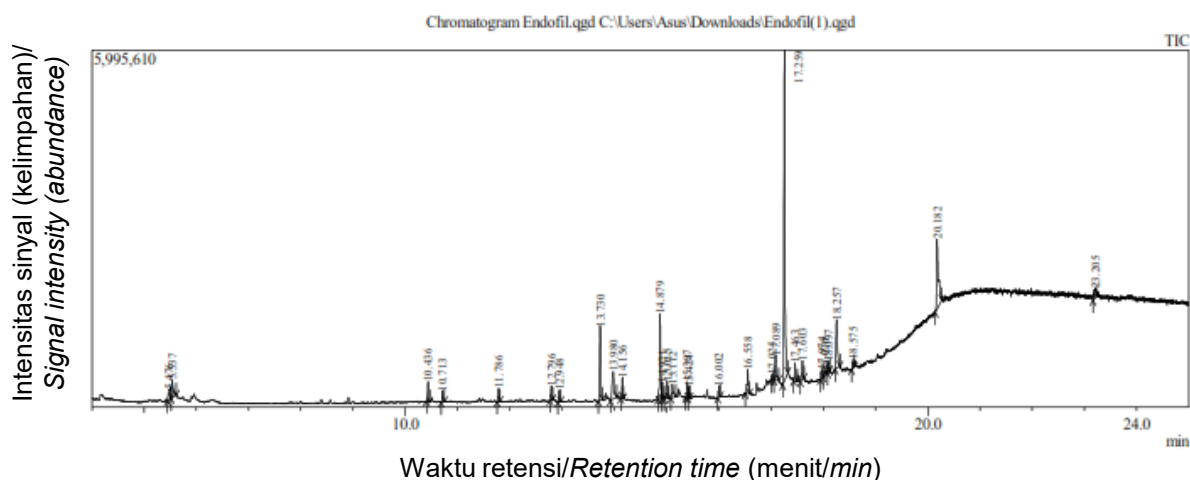
No.	Sampel/ Samples	Kadar Fenolik Total/ Total Phenolic Content (mg setara asam galat per gram sampel/mg galic acid equivalent per gram sample) $\pm$ SD	Kadar Flavonoid Total/ Total Flavonoid Content (mg setara kuersetin per gram sampel/ mg quercetin equivalent per gram sample) $\pm$ SD
1	Cl.Tka.R1	44.02 ^a $\pm$ 2.51	5.33 ^a $\pm$ 0.62
2	Cl.Tka.R2	62.72 ^{bc} $\pm$ 9.07	8.89 ^c $\pm$ 0.12
3	Cl.Tka.S1	75.05 ^c $\pm$ 8.46	25.93 ^d $\pm$ 0.55
4	Cl.Tka.S2	56.68 ^{ab} $\pm$ 7.10	6.92 ^b $\pm$ 0.06
5	Cl.Tka.S3	63.21 ^{bc} $\pm$ 7.67	38.50 ^e $\pm$ 1.55

Keterangan/ Note: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)/ Numbers followed by the same letter in the same column indicate no significant difference in Duncan's test ($\alpha = 0.05$).

kuersetin/g ekstrak (Yap et al., 2019). Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan diduga terjadi melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme yang mungkin adalah kemampuan flavonoid untuk segera mengikat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen atau mentransfer satu elektron (Procházková et al., 2011). Pada penelitian ini, masing-masing ekstrak menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam meredam radikal bebas, meskipun berasal dari bagian tumbuhan yang sama. Kemampuan antioksidan yang berbeda disebabkan oleh fakta bahwa setiap endofit dapat menghasilkan senyawa yang berbeda dengan fungsi yang sama bergantung pada pola interaksinya dengan tanaman inang (Selim et al., 2012).

Profiling metabolit sekunder dari kapang endofit

Profiling metabolit sekunder hanya dilakukan pada ekstrak isolat kapang yang memiliki nilai aktivitas antioksidan maupun kadar total fenolik dan flavonoid tertinggi yaitu kapang endofit Cl.Tka. S3. Profil metabolit sekunder berdasarkan *library* NIST17 dengan *similarity index* di atas 85% (Qian et al., 2025) dari kapang endofit Cl.Tka. S3 asal bagian stolon *C. lentilifera* dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 4. Hasil analisis KG-SM menunjukkan bahwa ekstrak kapang endofit Cl.Tka. S3 mengandung beberapa senyawa, diantaranya adalah golongan asam lemak, senyawa fenolik dan senyawa hidrokarbon. Ekstrak kapang endofit



Gambar 4. Kromatogram GCMS senyawa kimia dari ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3

Figure 4. GCMS chromatogram of chemical compounds from endophytic fungi extracts Cl.Tka.S3 isolate

Tabel 4. Senyawa kimia yang teridentifikasi dari ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3

Table 4. Identified chemical compounds from endophytic fungi extract Cl.Tka.S3 isolate

No.	Waktu retensi/ Retention time (menit/ minute)	Nama senyawa/ Compounds name	Rumus kimia/ Chemical Formula	Berat molekul/ Molecular weight (g/mol)	% area
1	5.537	Decane	$C_{10}H_{22}$	142	2.81
2	10.436	3-Isopropoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	$C_{18}H_{52}O_7Si_7$	576	1.43
3	10.713	Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	$C_{14}H_{22}O$	206	0.94
4	12.796	3-Eicosene, (E)-	$C_{20}H_{40}$	280	1.05
5	13.730	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270	5.94
6	14.156	9-Eicosene, (E)-	$C_{20}H_{40}$	280	1.65
7	14.879	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	296	7.57
8	15.015	Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	298	1.47
9	15.112	9-Hexadecenoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	1.93
10	15.397	1-Hexadecanol	$C_{16}H_{34}O$	242	1.25
11	15.424	Heptadecane	$C_{17}H_{36}$	240	0.79
12	16.002	Hexacosane	$C_{26}H_{54}$	366	0.86
13	17.089	Heneicosane	$C_{21}H_{44}$	296	3.52
14	17.603	Eicosane	$C_{20}H_{42}$	282	1.74
15	18.575	2-Methylhexacosane	$C_{27}H_{56}$	380	0.73

Cl.Tka.S3 mengandung beberapa senyawa asam lemak dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan saat ekstraksi. Pada penelitian ini pelarut ekstraksi yang digunakan adalah etil asetat yang lebih dapat menarik senyawa asam lemak yang bersifat semipolar, sehingga senyawa-senyawa asam lemak tersebut terdeteksi saat analisis KG-SM (Abdolshahi et al., 2015). Selain itu, tanaman inang *C. lentilifera* merupakan anggota dari jenis rumput laut yang secara umum didominasi oleh senyawa golongan asam lemak (Ahamed et al., 2023). Hal ini juga diperkuat dengan analisis KG-SM ekstrak etanol tanaman inangnya (*C. lentilifera*) yang didominasi oleh senyawa golongan asam lemak (Hapsari et al., 2023).

Satu senyawa golongan fenolik yaitu Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)- terdeteksi terkandung dalam ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3. Hal ini sejalan dengan hasil kadar fenolik total yang menunjukkan bahwa ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3 mengandung senyawa fenolik sebesar 63,21±7,67 mg setara asam galat/g ekstrak.

Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa senyawa Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)- yang terkandung dalam ekstrak etil asetat bakteri endofit *Acinetobacter baumannii* asal tanaman cabai memiliki aktivitas antioksidan (Monowar et al., 2019).

Selain senyawa fenolik, di dalam ekstrak kapang endofit isolat Cl.Tka.S3 juga terdapat senyawa-senyawa lain yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa golongan asam lemak yaitu Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Sharma et al., 2018). Senyawa asam lemak lainnya yang terkandung dalam ekstrak etil asetat kapang endofit Cl.Tk.S3 yaitu 3-Eicosene, (E)- yang terdapat pada ekstrak air tanaman *Parkia biglobosa* dan ekstrak etanol tanaman *Azadirachta indica* telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Sandra Chioma Chijioko et al., 2024).

Senyawa alkana juga terdeteksi dalam ekstrak etil asetat kapang endofit Cl.Tka.S3 diantaranya yaitu eicosane dan heptadecane. Kedua senyawa

ini telah dilaporkan sebagai antioksidan potensial. Eicosane dilaporkan memiliki potensi sebagai antioksidan pada percobaan *in vitro* kerusakan sel R28 yang diinduksi oleh glutamat (Wu et al., 2024). Heptadecane juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan potensial dengan cara melindungi sel YPEN-1 dari senyawa penginduksi stress oksidatif kuat tert-butylhydroperoxide (Kim et al., 2013). Senyawa lain yaitu senyawa alkohol 1-Hexadecanol yang terdeteksi terdapat pada ekstrak etil asetat kapang endofit Cl.Tka.S3 juga telah dilaporkan terdapat pada ekstrak etil asetat rumput laut *Enhalus acoroides* dan berperan sebagai senyawa antioksidan (Amudha et al., 2018).

Kemampuan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh kapang endofit sebagai antioksidan erat kaitannya dengan struktur senyawa tersebut. Kelompok senyawa fenolik, yang dicirikan oleh gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, sangat penting dalam kemampuan sebagai antioksidan karena kemampuannya untuk menyumbangkan atom hidrogen. Donasi ini menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif (Kruk et al., 2022). Kelompok tert-butil dapat bertindak sebagai kelompok pendonor elektron melalui efek induktif, meningkatkan kerapatan elektron pada cincin aromatik dan gugus hidroksil (Mtashobya, 2021). Hal ini dapat menstabilkan senyawa fenolik dengan memperlambat laju oksidasi, menstabilkan radikal fenoksi selama aktivitas antioksidan, dan meningkatkan efektivitas dalam mencegah oksidasi (Hoang & Park, 2024).

Beberapa senyawa golongan asam lemak telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Akan tetapi belum ada penelitian yang melaporkan mekanisme pasti bagaimana pengaruh struktur asam lemak terhadap kemampuannya dalam meredam radikal bebas. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa asam lemak dapat meningkatkan kemampuan senyawa golongan fenol dengan gugus ester dalam meredam radikal bebas (Rufino et al., 2020). Namun demikian, efek esterifikasi pada aktivitas antioksidan dapat berbeda tergantung pada jenis serta mekanisme aksi asam fenolik yang berbeda, yang terutama ditentukan oleh substitusi cincin aromatiknya (Sun et al., 2018).

KESIMPULAN

Kapang endofit isolat Cl.Tka.S1, Cl.Tka.S2, Cl.Tka.S3, Cl.Tka.R1, dan Cl.Tka.R2 telah berhasil diisolasi dari rumput laut *C. lentilifera*. Kelima ekstrak etil asetat isolat kapang endofit memiliki aktivitas antioksidan, serta didapatkan kadar fenol dan flavonoid totalnya. Ekstrak etil asetat kapang

endofit Cl.Tka.S3 yang berasal dari bagian stolon *C. lentilifera* memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dan mengandung beberapa senyawa aktif antioksidan berupa senyawa fenolik, asam lemak, alkana, dan alkohol.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolshahi, A., Majd, M. H., Rad, J. S., Taheri, M., Shabani, A., & Teixeira da Silva, J. A. (2015). Choice of solvent extraction technique affects fatty acid composition of pistachio (*Pistacia vera* L.) oil. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2422–2427. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1183-8>
- Ahamed, J. T., Srinivasan, G., Shanthi, M., & Mini, M. L. (2023). Multifaceted effects of seaweed extracts against cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch, by evaluating four macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, 35(3), 1397–1406. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-02938-9>
- Amudha, P., Jayalakshmi, M., Pushpabharathi, N., & Vanitha, V. (2018). Identification of bioactive components in enhalus acoroides seagrass extract by gas chromatography–mass spectrometry. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10), 313–317. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i10.25577>
- Bustanussalam, Rachman, F., Septiana, E., Lekatompessy, S. J., Widowati, T., Sukiman, H. I., & Simanjuntak, P. (2015). Screening for endophytic fungi from turmeric plant (*Curcuma longa* L.) of Sukabumi and Cibinong with potency as antioxidant compounds producer. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(1). <https://doi.org/10.3923/pjbs.2015.42.45>
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(4), 97–102.
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Chen, X., Sun, Y., Liu, H., Liu, S., Qin, Y., & Li, P. (2019). Advances in cultivation, wastewater treatment application, bioactive components of *Caulerpa lentilifera* and their biotechnological applications. *PeerJ*, 2019(1), 1–15. <https://doi.org/10.7717/peerj.6118>
- Demeni, P. C. E., Betote, P. H. D., Dadji Foko, G. A., Assam, J. Paul, Biabi A Bite, M. F., Tchamgoue, E. N., Efange, N. M., Lenta, B. N., Ayong, L., & Nyegue, M. A. (2025). Morphological and molecular characterization of endophytic fungi isolated *Alstonia boonei* De Wild. *Scientific African*, 27(September 2024). <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2025.e02550>
- Echegaray, N., Pateiro, M., Muneke, P. E. S., Lorenzo, J. M., Chabani, Z., Farag, M. A., & Domínguez, R. (2021). Measurement of antioxidant capacity of meat and

- meat products: Methods and applications. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133880>
- Esmaili, A. K., Taha, R. M., Mohajer, S., & Banisalam, B. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L. (red clover). *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/643285>
- Hapsari, Y., Rahmawati, S. I., Izzati, F., Septiana, E., Bustanussalam, Rachman, F., Simanjuntak, P., Bayu, A., & Putra, M. Y. (2023). *Caulerpa lentillifera* as a potential nutraceutical resource. *AIP Conference Proceedings*, 2606(February). <https://doi.org/10.1063/5.0119997>
- Hoang, N. M. H., & Park, K. (2024). Applications of Tert-Butyl-Phenolic Antioxidants in Consumer Products and Their Potential Toxicities in Humans. *Toxics*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/toxics12120869>
- Khani, M., Motamedi, P., Dehkoda, M. R., Dabagh Nikukheslat, S., & Karimi, P. (2017). Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 α content and endurance exercise performance in rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0167-x>
- Khelouf, I., Karoui, I. J., Lakoud, A., Hammami, M., & Abderrabba, M. (2023). Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves *Olea europaea* L. of Tunisian and Algerian varieties. *Heliyon*, 9(12), e22217. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22217>
- Kim, D. H., Park, M. H., Choi, Y. J., Chung, K. W., Park, C. H., Jang, E. J., An, H. J., Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2013). Molecular Study of Dietary Heptadecane for the Anti-Inflammatory Modulation of NF- κ B in the Aged Kidney. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059316>
- Kruk, J., Aboul-Enein, B. H., Duchnik, E., & Marchlewicz, M. (2022). Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. *Journal of Physiological Sciences*, 72(1), 1–24. <https://doi.org/10.1186/s12576-022-00845-1>
- Kumala, S., & Pratiwi, A. A. (2014). Efek antimikroba dari kapang endofit ranting tanaman biduri. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(2), 111–120.
- Li, H. Bin, Wong, C. C., Cheng, K. W., & Chen, F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT - Food Science and Technology*, 41(3), 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.011>
- Liang, Z., Liu, F., Wang, W., Zhang, P., Sun, X., Wang, F., & Kell, H. (2019). High-throughput sequencing revealed differences of microbial community structure and diversity between healthy and diseased *Caulerpa lentillifera*. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1605-5>
- Lunggani, A. T., Kusdiyantini, E., Supriyadi, A., Utomo, A. B., Mahardhika, W. A., Afifah, A., & Naryaningsih, A. (2023). Unveiling the antibacterial potential and metabolite profile of fungal endophytes of *Caulerpa* spp. from Teluk Awur Beach, Jepara, Indonesia. *AACL Bioflux*, 16(6), 2955–2964.
- Makky, E. A., Almatar, M., Mahmood, M. H., Wei Ting, O., & Zi Qi, W. (2021). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of ethyl acetate extract of *saccharomyces cerevisiae*. *Food Technology and Biotechnology*, 59(2), 127–136. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6658>
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshizawa, T., Sugiura, M., Nakagawa, K., & Tago, H. (1994). Antioxidant xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry*, 36(2), 501–506. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97103-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97103-6)
- Monowar, T., Rahman, M. S., Bhore, S. J., Raju, G., & Sathasivam, K. V. (2019). Secondary Metabolites Profiling of *Acinetobacter baumannii* Associated with Chili (*Capsicum annuum* L.) Leaves and Concentration Dependent Antioxidant and Prooxidant Properties. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6951927>
- Mtashobya, L. (2021). Insights on tert-butyl alkylation effects on fluorobenzene. *Scientific African*, 11, e00659. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00659>
- Nagda, V., Gajbhiye, A., & Kumar, D. (2017). Isolation and characterization of endophytic fungi from *Calotropis procera* for their antioxidant activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 254–258. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16125>
- Nicoletti, R., & Fiorentino, A. (2015). Plant bioactive metabolites and drugs produced by endophytic fungi of spermatophyta. In *Agriculture* (Vol. 5, Issue 4). <https://doi.org/10.3390/agriculture5040918>
- Noor, S., Begum, N., Rony, S. R., Uddin, M. Z., Sohrab, H., & Mazid, A. (2024). Bioactivity and chemical screening of endophytic fungi associated with the seaweed *Ulva* sp. of the Bay of Bengal, Bangladesh. *Botanica Marina*, 67(2), 115–129. <https://doi.org/10.1515/bot-2023-0040>
- Nufus, C., Nurjanah, & Abdullah, A. (2017). Karakteristik rumput laut hijau dari perairan Kepulauan Seribu dan Sekotong Nusa Tenggara Barat sebagai antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(3), 620–632.
- Olugbami, J. O., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2014). In vitro evaluation of the antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of *Anogeissus leiocarpus*. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, 43(Suppl 1), 101–109.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
- Purwati, E., Amalia, R., Windarto, S., Rejeki, S., & Saputra, D. (2024). Antibacterial activity of endophytic fungi *Caulerpa racemosa* against *Vibrio parahaemolyticus* in Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 32(4), 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.apjmb.2023.100000>

- org/10.35118/apjmmb.2024.032.4.11
- Qian, S. Z., Jiang, Y. M., Yan, Q. L., Wu, D. H., Zhang, W. X., & Chung, J. P. (2025). Visualization OPLS class models of GC-MS-based metabolomics data for identifying agarwood essential oil extracted by hydro-distillation. *Scientific Reports*, 15(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85976-2>
- Rahmawati, S. I., Izzati, F., Yadi, Septiana, E., Bustanussalam, & Simanjuntak, P. (2020). Antioxidant activities of mangrove fruits endophytic fungus from Segara Anakan Lagoon, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 439(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/439/1/012034>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rico, M., Sánchez, I., Trujillo, C., & Pérez, N. (2013). Screening of the antioxidant properties of crude extracts of six selected plant species from the Canary Islands (Spain). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86(1), 217–220. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.030>
- Rufino, M. D. S. M., Nazareno, L. S. Q., Alves, R. E., & Fernandes, F. A. N. (2020). Kinetic modeling and evaluation of free radical-scavenging behavior in oils: Application to four tropical and subtropical fruits in a DPPH system. *Food Science and Technology*, 40(2), 440–443. <https://doi.org/10.1590/fst.03819>
- Rushdi, M. I., Abdel-Rahman, I. A. M., Attia, E. Z., Abdelraheem, W. M., Saber, H., Madkour, H. A., Amin, E., Hassan, H. M., & Abdelmohsen, U. R. (2020). A review on the diversity, chemical and pharmacological potential of the green algae genus *Caulerpa*. *South African Journal of Botany*, 132, 226–241. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.031>
- Salini, G., Madhusoodhanan, A., Joseph, A., Mohan, A., Navya, R. K., & Nair, V. V. (2015). Antibacterial and antioxidant potential of endophytic fungi isolated from mangroves. *Der Pharmacia Lettre*, 7(12), 53–57.
- Sandra Chioma Chijioke, Chinyere Henrietta Onuoha, & Chieme Sunday Chukwudoruo. (2024). Bioactive compositions and identification of functional groups of selected medicinal plants. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 27(1), 008–027. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2024.27.1.0106>
- Sekhon-Loodu, S., & Rupasinghe, H. P. V. (2019). Evaluation of antioxidant, antidiabetic and antiobesity potential of selected traditional medicinal plants. *Frontiers in Nutrition*, 6, 53. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00053>
- Selim, S., El Alfy, S., Al-Ruwaili, M., Abdo, A., & Al Jaouni, S. (2012). Susceptibility of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to flavonoid glycosides of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tamar growing in Al Madinah, Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 416–422. <https://doi.org/10.5897/ajb11.1412>
- Sharma, S., Saxena, D. C., & Riar, C. S. (2018). Changes in the GABA and polyphenols contents of foxtail millet on germination and their relationship with in vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*, 245(November 2017), 863–870. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.093>
- Sitorus, M. S., Anggraini, D. R., & Hidayat. (2017). Decreasing free radicals level on high risk person after vitamin C and E supplement treatment. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, 180, 012093. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/180/1/012093>
- Sun, X., & Guo, L.-D. (2012). Endophytic fungal diversity: Review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, 3(1), 65–76. <https://doi.org/10.1080/21501203.2012.656724>
- Sun, Y., Zhou, D., & Shahidi, F. (2018). Antioxidant properties of tyrosol and hydroxytyrosol saturated fatty acid esters. *Food Chemistry*, 245(November), 1262–1268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.051>
- Tiwari, V., Shanker, R., Srivastava, J., & Vankar, P. S. (2006). Change in antioxidant activity of spices turmeric and ginger on heat treatment. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 5(2), 1313–1317.
- Tomita, F. (2003). Endophytes in Southeast Asia and Japan: Their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity*, 14, 187–204.
- Wu, Z. K., Li, H. Y., Zhu, Y. L., Xiong, M. Q., & Zhong, J. X. (2024). Neuroprotective and anti-inflammatory effects of eicosane on glutamate and NMDA-induced retinal ganglion cell injury. *International Journal of Ophthalmology*, 17(4), 638–645. <https://doi.org/10.18240/ijo.2024.04.05>
- Yadav, M., Yadav, A., & Yadav, J. P. (2014). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of endophytic fungi isolated from *Eugenia jambolana* Lam. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), S256–S261. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60242-X](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60242-X)
- Yap, W. F., Tay, V., Tan, S. H., Yow, Y. Y., & Chew, J. (2019). Decoding antioxidant and antibacterial potentials of Malaysian green seaweeds: *Caulerpa racemosa* and *Caulerpa lentillifera*. *Antibiotics*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030152>
- Zohri, A. A., Moharram, A. M., & El-ghani, O. A. A. (2017). Antioxidant potentialities of some strains belonging to endophytic, entomopathogenic and saprophytic fungi. *European Journal of Biological Research*, 7(1), 76–85. <https://doi.org/10.5281/zenodo.398829>