

Fermentasi, uji aktivitas antioksidan, dan uji toksisitas metabolit sekunder jamur *Penicillium citrinum* SP 4-2 dari spons *Scleractinia* sp.

Fermentation, antioxidant activity, and toxicity of secondary metabolites from *Penicillium citrinum* SP 4-2 associated with the sponge *Scleractinia* sp.

Ni Made Diah Listyaningrum¹, Ni Komang Ayu Cintia Dewi¹, Ni Kadek Dwijayanti¹, Ni Putu Eka Leliqia^{1,2}, I Nengah Wirajana³, Joko Tri Wibowo^{4,5}, Ni Putu Ariantari^{1,2,*}

¹) Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Badung, Bali, 80361, Indonesia

²) Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Jl. PB Sudirman, Denpasar 80234, Indonesia

³) Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Raya Kampus Unud, Jimbaran Badung, 80361, Indonesia

⁴) Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Bogor, Jawa Barat, Indonesia – 10340

⁵) STIKES Mamba'ul 'Ulum Surakarta, Jl. Ring Road Utara KM 0.3 Tawang Sari Mojosongo Surakarta 57127, Indonesia

*Email: putu_ariantari@unud.ac.id

Diterima
6 Januari 2026

Disetujui
28 Mei 2026

INTISARI

Jamur laut yang berasosiasi dengan spons merupakan salah satu sumber potensial metabolit sekunder bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, serta mengevaluasi aktivitas antioksidan dan toksisitas metabolit sekunder jamur laut yang diisolasi dari spons *Scleractinia* sp. yang dikoleksi di Perairan Amed, Bali. Penelitian diawali dari identifikasi jamur dilakukan secara morfologis dan molekuler berdasarkan sekuens *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Isolat difermentasi pada media nasi dengan dan tanpa penambahan garam, kemudian diekstraksi hingga diperoleh ekstrak metanol. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), sedangkan toksisitas diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil isolasi didapatkan 1 isolat jamur SP 4-2 yang diidentifikasi sebagai *Penicillium citrinum*. Skrining fitokimia menunjukkan keberadaan alkaloid dan flavonoid pada kedua perlakuan media. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak metanol *P. citrinum* SP 4-2 memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} terendah pada media dengan penambahan garam sebesar $64,72 \pm 4,81 \mu\text{g/mL}$. Uji toksisitas menunjukkan aktivitas toksik yang tinggi dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar $19,33 \pm 1,53$ dan $51,02 \pm 5,12 \mu\text{g/mL}$ pada media dengan dan tanpa penambahan garam. Hal ini menunjukkan bahwa *P. citrinum* SP 4-2 berpotensi sebagai sumber metabolit sekunder bioaktif dengan aktivitas antioksidan dan toksisitas yang signifikan, serta berpotensi dikembangkan lebih lanjut untuk uji farmakologis sebagai antikanker.

Kata kunci: antioksidan, metabolit sekunder, *Penicillium citrinum*, spons *Scleractinia* sp., toksisitas

ABSTRACT

Fungi associated with sponges are one of potential sources of bioactive secondary metabolites. This study aims to isolate, identify, and evaluate the antioxidant activity and toxicity of secondary metabolites of fungi isolated from *Scleractinia* sp. sponges collected from Amed waters, Bali. The study began with the identification of fungi based on morphological and molecular characteristics using *Internal Transcribed Spacer* (ITS) sequences. The fungal isolate was fermented on rice media with and without the addition of salt, then extracted to obtain

methanol extracts. Antioxidant activity was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, while toxicity was assessed using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The isolation procedure yielded 1 fungal isolate incoded as isolate SP 4-2, which was then identified as *P. citrinum*. Phytochemical screening of the fungal extracts showed the presence of alkaloids and flavonoids in both media treatments. Antioxidant assay showed that the methanol extract of *P. citrinum* SP 4-2 had strong antioxidant activity with the lowest IC₅₀ value in the medium with salt addition at 64.72 ± 4.81 µg/mL. The BSLT results showed that both extracts had a high toxicity with LC₅₀ values of 19.33 ± 1.53 and 51.02 ± 5.12 µg/mL in media with and without salt, respectively. This result indicates that *P. citrinum* SP 4-2 has potential as a source of bioactive secondary metabolites with significant antioxidant and toxicity, and may be further developed for pharmacological testing as an anticancer agent.

Keywords: *antioxidant, Penicillium citrinum, Scleractinia sp. sponge, secondary metabolites, toxicity*

PENDAHULUAN

Lingkungan laut merupakan sumber metabolit sekunder bioaktif yang masih relatif belum tereksplorasi secara penuh, terutama dalam hal mikroorganisme laut yang nasiosiasi dengan spons laut. Jamur sebagai mikroba laut yang nasiosiasi dengan spons telah lama dikenal mampu memproduksi metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang beragam, seperti antioksidan, antimikroba, dan toksisitas, yang penting dalam pengembangan obat dan bahan bioaktif lainnya (Lv & Zeng, 2024). Penelitian oleh Wiese *et al.* (2011) melaporkan bahwa dari spons laut *Tethya aurantium* berhasil diisolasi berbagai jenis jamur laut yang termasuk dalam banyak kelompok taksonomi, seperti *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, dan *Trichoderma*. Selain itu, penelitian lain terhadap jamur laut yang nasiosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. melaporkan bahwa ekstrak etil asetat yang dihasilkan menunjukkan aktivitas antimikroba. Uji difusi cakram terhadap mikroorganisme uji memperlihatkan diameter zona hambat sebesar 11,6 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, 9,66 mm terhadap *Escherichia coli*, dan 14,0 mm terhadap *Candida albicans* (Bastian dkk., 2018).

Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang mengeksplorasi mengenai jamur laut yang nasiosiasi dengan spons *Scleractinia* sp. Adanya perbedaan inang atau spons dan wilayah pengambilan spons dapat mempengaruhi variasi jamur laut hasil isolasi sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan juga beragam (Kong *et al.*, 2025). Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi jamur laut yang nasiosiasi *Scleractinia* sp. yang diambil dari Perairan Amed, Bali. Jamur laut yang berhasil diisolasi kemudian difermentasi pada media nasi dengan penambahan garam dan tanpa penambahan garam hingga dihasilkan ekstrak metanol. Ekstrak metanol jamur laut kemudian diuji aktivitas antioksidan dan toksisitasnya.

MATERI DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Jamur laut diisolasi dari sampel spons *Scleractinia* yang dikoleksi pada bulan Juni 2024 di Perairan Amed, Kecamatan Abang, Kabupaten Karangasem, Bali, Indonesia ($8^{\circ}21'00.8''\text{LS}$; $115^{\circ}40'58.4''\text{BT}$). Sampel spons disimpan dalam wadah steril dan dibawa ke Laboratorium Terpadu Universitas Udayana untuk diproses lebih lanjut.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan untuk isolasi jamur adalah media agar yang mengandung Bacto agar (Difco BD®, USA), ekstrak malt (Himedia®, India),

artificial sea salt water broth (Himedia®, India), dan kloramfenikol (Nalgene, Kansas, AS) dalam akuades. Media purifikasi memiliki komposisi serupa tanpa penambahan kloramfenikol. Untuk pemeliharaan jangka panjang, digunakan media agar *long-term* yang mengandung Bacto agar (Difco BD®, USA), ekstrak malt (Himedia®, India), ekstrak yeast (Oxoid®, Prancis), gliserin, dan *artificial sea salt water broth* (Himedia®, India) dalam akuades. Untuk identifikasi molekuler, DNA genomik jamur diekstraksi menggunakan Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research®, USA). Untuk amplifikasi DNA, primer ITS1+4 ditambahkan bersama dengan MyTaq™ Red DNA Polymerase (Meridian Bioscience®) dan *nuclease-free water* (Thermo Scientific®, Lithuania). Untuk elektroforesis, pewarna DNA FloroSafe (1st BASE®, Singapura) dimuat ke dalam gel agarosa (1st BASE®, Singapura) dalam buffer tris-acetate-EDTA (TAE) (1st BASE®, Singapura), dan pewarna pemuatan (Geneaid, Taiwan ROC) ditambahkan ke produk PCR. Media nasi (Putri Sejati®, Indonesia) dengan atau tanpa penambahan *artificial sea salt water* dimanfaatkan untuk fermentasi jamur. Pelarut etil asetat, metanol, dan n-heksana digunakan dalam proses maserasi dan ekstraksi cair-cair metabolit sekunder jamur. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH; Smart-Lab®, Indonesia) sebagai sumber radikal bebas, dengan asam askorbat (Supelco®, Jerman) sebagai larutan pembanding. Pada uji toksisitas, digunakan dimetil sulfoksida (DMSO; Sigma Aldrich®, USA) dan larva *Artemia salina* (Supreme Plus®) dalam metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Alat-alat yang digunakan yaitu *Laminar Air Flow* (LAF) (LabTech®), autoklaf (Gemmy®), cawan petri *disposable* (Citotest®), inkubator (Olympus®), gelas ukur (Iwaki®), gelas beaker (Iwaki®), erlenmeyer (Duran®), corong pisah (Phyrex®), parafilm (Merck®), pipet tetes (Brand®), mikropipet (Ivyx Scientific®), *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, *microwell 24-well* (Biologix®), *microwell 96-well flat bottom* (Iwaki®, Jepang), penutup gabus, spatula besi, scalpel, aluminium foil (Klin Pak®), *vacuum rotary evaporator* (Eyela®), aerator (BOYU®), labu gelas bulat (DURAN®), jarum Ose, *heating block* (DLAB®), *magnetic stirrer* (Labnet®), statif, bunsen, lemari pendingin (SANKEN®), *shaker* (LabNet®), *vortex*, *collection box* (Biologix®), botol kaca (Schott®), botol vial, indikator sterilisasi eksternal (Taragen®), dan *plastic wrap* (Cling Wrap®).

Isolasi dan purifikasi jamur

Isolasi jamur yang nasial dari sedimen laut dilakukan sesuai dengan prosedur yang dijelaskan dalam protokol (Kjer *et al.*, 2010). Secara singkat, spons dicuci dengan menggunakan air mengalir selama 3 menit, kemudian permukaan spons disterilkan dengan merendamnya dalam alkohol 70% selama 2 menit dan dibiarkan hingga kering. Sampel yang telah steril dipotong menjadi beberapa potongan kecil (1×1 cm) dan diletakkan pada media agar isolasi. Media agar isolasi sampel kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama beberapa hari hingga pertumbuhan jamur teramati. Setiap koloni jamur dengan penampilan morfologis yang berbeda dipindahkan ke media agar purifikasi untuk pemurnian jamur. Media agar purifikasi dibiarkan pada suhu ruang hingga didapatkan isolat jamur murni yang selanjutnya dapat dipindahkan ke media agar *long-term* untuk pemeliharaan jamur jangka panjang (Ariantari *et al.*, 2023).

Identifikasi molekuler

Setiap isolat jamur murni diuji menggunakan protokol biologi molekuler untuk mengidentifikasi jamur tersebut. Identifikasi molekuler dilakukan melalui analisis perbandingan sekuens DNA pada daerah ITS menggunakan primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai *primer forward* dan ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *primer reverse*. Sebelum proses *polymerase chain reaction* (PCR), DNA jamur diekstraksi menggunakan Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit sesuai protokol pada kemasan. DNA yang diekstraksi diamplifikasi menggunakan Labcycler 48 Thermocycler menggunakan campuran yang mengandung 1 µL primer ITS1, 1 µL primer ITS4, 20 µL DNA polimerase, 17 µL *nuclease-free water*, dan 1 µL DNA genomik jamur hasil ekstraksi sebagai templat. Untuk amplifikasi DNA, *termocycler* diatur pada kondisi pra-denaturasi pada 95°C selama 1,5 menit, diikuti oleh 35 siklus denaturasi, *annealing*, dan ekstensi pada suhu berturut-turut sebesar 95, 56, dan 72°C; setiap siklus dijalankan selama 1 menit dan diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 15 menit. Hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa 1% dalam buffer 10× TAE pada tegangan 75 volt selama 45 menit. Produk PCR kemudian dikirim ke *Genetica Science Laboratory* untuk dilakukan analisis sekuensing. Sekuens yang diperoleh dibandingkan dengan database nukleotida menggunakan program BLAST pada GenBank (NCBI). Sekuens referensi yang relevan disejajarkan dengan sekuens jamur menggunakan metode MUSCLE, dan pohon filogenetik direkonstruksi dengan perangkat lunak MEGA versi 11.0.11 dengan metode *neighbor-joining* dengan 1.000 kali *bootstrap replications* (Putra *et al.*, 2025).

Fermentasi dan ekstraksi

Setiap isolat jamur difermentasi pada media nasi dengan dua perlakuan, yaitu dengan penambahan garam dan tanpa penambahan garam. Media nasi disiapkan dengan memasukkan 100 g nasi dan 110 mL akuades ke dalam Erlenmeyer 1 L, sedangkan untuk perlakuan dengan garam ditambahkan 3,8 g *artificial sea salt*. Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat kayu dan dibungkus dengan foil aluminium. Setelah itu, media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 30 menit dan waktu pengeringan 15 menit. Isolat jamur murni dari media agar kemudian dipotong menjadi ±10 bagian kecil (1×1 cm) dan ditempatkan di permukaan media nasi yang telah disiapkan. Fermentasi statis dilakukan selama 3-4 minggu hingga seluruh permukaan media nasi tertutup oleh miselium jamur. Media nasi yang telah difermentasi selanjutnya diekstrak dengan metode maserasi menggunakan 500 mL etil asetat dalam *orbital shaker* selama 8 jam pada kecepatan 150 rpm. Filtrat hasil maserasi kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etil asetat pekat bebas pelarut. Ekstrak tersebut selanjutnya dipartisi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan 90% metanol air dan n-heksana dengan perbandingan 2:1. Fraksi metanol kemudian dipekatkan hingga diperoleh ekstrak yang akan digunakan untuk analisis kandungan metabolit bioaktif serta uji bioaktivitas (Ariantari, *et al.*, 2023).

Skrining fitokimia

Ekstrak uji disiapkan dengan konsentrasi 6000 µg/mL, kemudian dilakukan analisis skrining fitokimia untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, saponin, polifenol, dan flavonoid. Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff, Wagner, dan Bouchardat.

Sebanyak 100 μ L larutan ekstrak dicampurkan dengan 100 μ L HCl 2N, kemudian ditambahkan masing-masing tiga tetes pereaksi. Terbentuknya endapan oranye pada penambahan pereaksi Dragendorff, endapan putih hingga kuning pada pereaksi Wagner, serta endapan cokelat hingga hitam pada pereaksi Bouchardat mengindikasikan adanya alkaloid. Uji terpenoid dilakukan dengan mencampurkan 200 μ L larutan ekstrak dengan 100 μ L kloroform dan 100 μ L H₂SO₄. Munculnya lapisan merah kecokelatan pada bagian atas menunjukkan hasil positif untuk terpenoid. Sementara itu, identifikasi steroid dan triterpenoid dilakukan dengan uji Liebermann–Burchard. Warna biru kehijauan menandakan keberadaan steroid, sedangkan terbentuknya cincin cokelat atau ungu pada batas antarpelarut menunjukkan adanya triterpenoid. Untuk pengujian saponin, sebanyak 200 μ L larutan ekstrak dikocok secara vertikal selama 10 detik, lalu ditambahkan satu tetes HCl 2N. Terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang menandakan adanya saponin. Uji polifenol dilakukan dengan mereaksikan 200 μ L larutan ekstrak dengan larutan FeCl₃ 10%. Perubahan warna menjadi biru tua, hingga biru atau hijau kehitaman menunjukkan hasil positif untuk polifenol. Pengujian flavonoid dilakukan dengan menguapkan 200 μ L larutan ekstrak, kemudian ditambahkan masing-masing 200 μ L aseton, asam borat, asam oksalat, dan eter. Hasil campuran kemudian diamati di bawah cahaya UV pada panjang gelombang 366 nm. Fluoresensi kuning yang terang menegaskan adanya flavonoid (Dwijayanti dkk., 2025).

Uji antioksidan

Aktivitas antioksidan dari ekstrak uji dianalisis menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Asam askorbat digunakan sebagai pembanding dengan variasi konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 12 μ g/mL. Ekstrak sampel diuji pada konsentrasi 20 hingga 500 μ g/mL. Sebanyak 40 μ L larutan DPPH 0,5 mM dicampurkan dengan 160 μ L sampel yang dilarutkan dalam metanol, kemudian dimasukkan ke dalam *microplate* 96 sumur. Campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan mendonorkan proton kepada radikal bebas DPPH, yang ditunjukkan dengan penurunan nilai absorbansi. Seluruh pengujian dilakukan dalam tiga ulangan (triplo) (Wulandari *et al.*, 2025). Aktivitas antioksidan dievaluasi berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

A: Absorbansi blanko

B: Absorbansi sampel

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT. Setiap ekstrak metanol jamur dilarutkan dalam DMSO dan kemudian dilarutkan dalam air laut buatan, menghasilkan serangkaian konsentrasi berkisar antara 1 hingga 1.000 μ g/mL. *Artificial sea salt water* (9,5 g dalam 300 mL akuades) disiapkan untuk penetasan 20 mg telur *A. salina* yang diinkubasi selama 48 jam di bawah lampu pijar dengan aerasi. Uji toksisitas dilakukan menggunakan *microplate* 24 sumur (6 kolom $\times$ 4 baris) dengan memindahkan 10 larva menggunakan pipet *Pasteur* ke dalam sumur yang ditambahkan dengan konsentrasi serial ekstrak jamur.

Larva juga ditempatkan dalam sumur yang mengandung 1% DMSO dalam *artificial sea salt water* sebagai kontrol negatif. Setiap uji dilakukan secara triplo, kemudian *microplate* disimpan pada suhu ruangan dengan pencahayaan konstan selama 24 jam. Setelah itu, jumlah larva yang mati dalam setiap sumur dihitung. Persentase mortalitas dan penentuan nilai *Lethal Concentration 50%* LC_{50} menggunakan analisis probit antara konsentrasi dan kematian digunakan untuk mengklasifikasikan tingkat toksisitas ekstrak (Ariantari *et al.*, 2024). Persentase mortalitas dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100\%$$

Analisis data

Data sekuens ITS dibandingkan dengan sekuens lainnya yang tersimpan pada Genbank menggunakan program BLAST. Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan MEGA 11. Hasil uji antioksidan dan toksisitas dianalisis dengan Microsoft Excel, kemudian dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ SD dengan satuan $\mu\text{g/mL}$.

HASIL

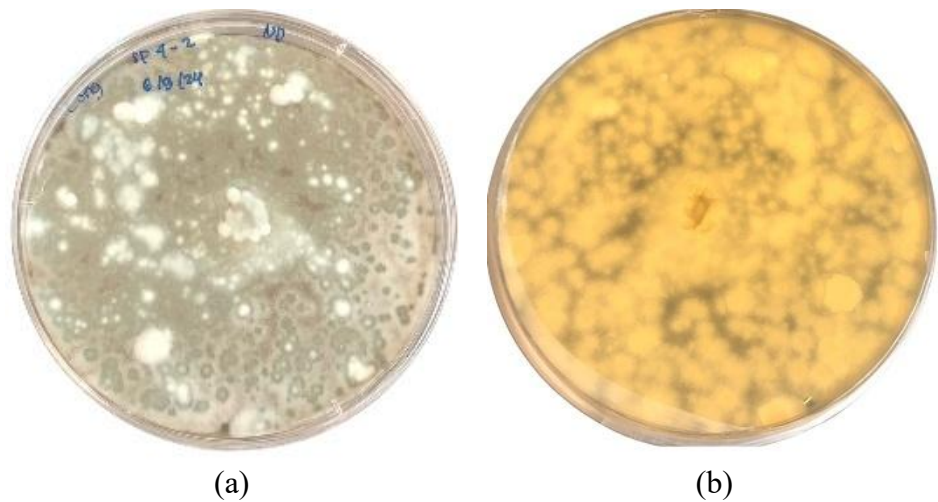
Isolasi dan identifikasi jamur laut yang nasiosiasi dengan spons

Isolasi jamur dari spons *Scleractinia* sp. (Gambar 1) menghasilkan satu isolat jamur dengan kode SP 4-2 yang diperoleh dari Pantai Amed.



Gambar 1. Spons *Scleractinia* sp.

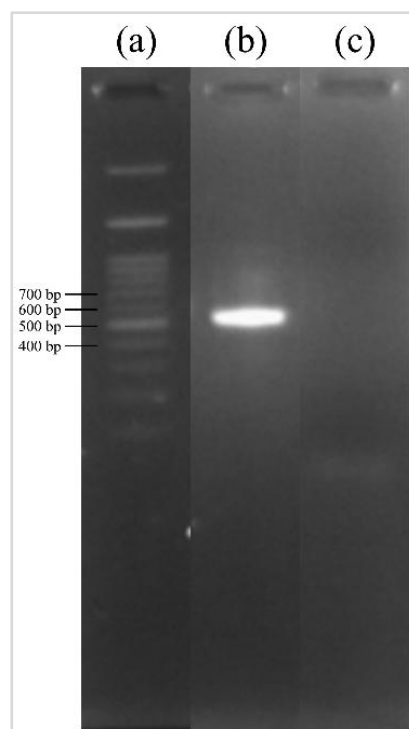
Jamur SP 4-2 yang dihasilkan tumbuh berwarna putih dengan dasar berwarna kehijauan bila diamati dari penampakan atas, sedangkan pada penampakan bawah media yang ditumbuhi jamur berwarna kekuningan. Hal ini sejalan dengan ciri morfologis genus *Penicillium*, koloni jamur ini umumnya memiliki konidia berwarna abu-abu kehijauan hingga hijau kebiruan, disertai pigmen terlarut kuning hingga kuning-oranye serta *reverse* koloni kuning hingga kuning-kecokelatan pada beberapa media (Houbrake *et al.*, 2011). Berdasarkan kesesuaian karakter morfologis tersebut, jamur SP 4-2 diperkirakan merupakan jamur dari genus *Penicillium* sp. Penampilan makroskopis isolat jamur ditunjukkan pada Gambar 2.



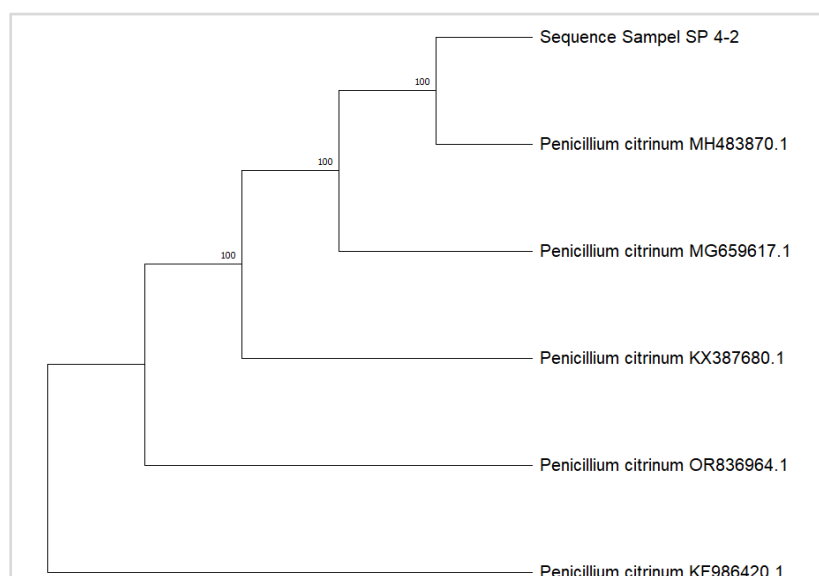
Gambar 2. Penampilan morfologis isolat jamur SP 4-2; (a) penampakan atas dan (b) penampakan bawah.

Identifikasi molekuler

Identifikasi spesies berdasarkan perbandingan urutan menggunakan ITS1 dan ITS4 berkembang dengan cepat dan menunjukkan variabilitas genetik yang lebih tinggi antar spesies. Oleh karena itu, wilayah ITS dapat digunakan untuk identifikasi spesies. Amplifikasi wilayah ITS dari isolat SP 4-2 menghasilkan band DNA dengan panjang sekitar 500–700 bp (Gambar 3). Isolat diklasifikasikan ke dalam spesies *P. citrinum* dengan persentase kesamaan yang tinggi (100%) dan nilai E sebesar 0,0. Isolat SP 4-2 diidentifikasi sebagai *P. citrinum*, dengan kesamaan 99,61% terhadap *Penicillium citrinum* MH483870.1 dan didukung oleh nilai *bootstrap* 100 dalam analisis filogenetik (Gambar 4).



Gambar 3. Elektroforegram produk PCR dari amplifikasi wilayah ITS; (a): 100 bp DNA ladder, (b): sampel DNA *P. citrinum* SP 4-2, dan (c): kontrol negatif.



Gambar 4. Pohon filogenetik isolat *P. citrinum* SP 4-2 berdasarkan perbandingan wilayah Internal Transcribed Spacer (ITS) menggunakan neighbor-joining algorithm dengan 1.000 bootstrap.

Fermentasi dan ekstraksi

Fermentasi isolat pada media nasi dengan penambahan garam dan tanpa penambahan garam dilakukan dalam 1 *flask*. Ekstrak metanol dan n-heksana yang diperoleh dari pemisahan cair-cair ekstrak etil asetat dari setiap isolat jamur ditampilkan Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah ekstrak yang dihasilkan setelah fermentasi jamur yang nasial dari spons laut.

Isolat Jamur	Jenis Media	Jumlah Ekstrak (g)		
		Ekstrak EtOAc	Ekstrak N-heksana	Ekstrak MeOH
<i>P. citrinum</i> SP 4-2	Dengan Garam	0,979	0,565	0,414
	Tanpa Garam	1,216	0,841	0,373

Analisis fitokimia

Uji analisis skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan alkaloid dan flavonoid yang terdeteksi dalam ekstrak *P. citrinum* SP 4-2 yang difermentasi pada medium nasi yang ditambahkan garam maupun tanpa penambahan garam. Polifenol dan terpenoid terdeteksi pada ekstrak *P. citrinum* SP 4-2 yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media dengan penambahan garam. Saponin, terpen, dan steroid tidak terdeteksi pada satupun ekstrak metanol. Hasil skrining fitokimia ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol dari jamur yang nasial dari spons laut.

Isolat Jamur	Jenis Media	Kelas Metabolit Sekunder						
		Alkaloid*	Flavonoid	Polifenol	Saponin	Terpen	Steroid	Triterpen
<i>P. citrinum</i> SP 4-2	Dengan Garam	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	Tanpa Garam	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+/-) menunjukkan adanya/tidaknya kelas metabolit sekunder yang sesuai.

*Hasil positif alkaloid ditunjukkan pada 3 reagen pereaksi, yaitu Dragendorff, Wagner, dan Bouchardat.

Uji antioksidan

Aktivitas antioksidan dari ekstrak yang diuji ditunjukkan dengan rata-rata $IC_{50} \pm$ simpangan baku. Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat mempunyai nilai $IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$, sedang $101\text{-}250 \mu\text{g/mL}$, lemah $250\text{-}500 \mu\text{g/mL}$, dan tidak aktif $>500 \mu\text{g/mL}$ (Pujiastuti dan Islamiyati, 2021). Asam askorbat sebagai pembanding menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai $IC_{50} 6,79 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak *P. citrinum* SP 4-2 yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media nasi dengan dan tanpa penambahan garam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar $64,72 \pm 4,81$ dan $80,37 \pm 0,81 \mu\text{g/mL}$.

Uji toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT dengan hasil yang ditunjukkan yaitu rata-rata $LC_{50} \pm$ simpangan baku. Hasil yang diperoleh yakni ekstrak *P. citrinum* SP 4-2 hasil fermentasi pada media nasi dengan penambahan garam memiliki nilai LC_{50} sebesar $19,33 \pm 1,53 \mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media nasi tanpa garam memiliki nilai LC_{50} sebesar $51,02 \pm 5,12 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kriteria klasifikasi toksisitas menurut Aksono *et al.* (2022), sampel dengan $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan sebagai sangat toksik, sehingga kedua perlakuan ekstrak dalam studi ini dapat dikategorikan berada pada tingkat toksisitas tinggi.

PEMBAHASAN

Penicillium citrinum merupakan jamur filamen kosmopolitan yang tersebar luas di berbagai lingkungan, sehingga menjadi salah satu organisme eukariotik yang paling umum dijumpai di alam (Houbraken *et al.*, 2010). Jamur ini telah berhasil diisolasi dari berbagai substrat, seperti sedimen, spons, hingga air laut yang memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan metabolit sekunder dengan keragaman bioaktivitas, seperti antimikroba, antioksidan, hingga toksisitas. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa spesies *P. citrinum* banyak ditemukan sebagai jamur laut yang nasiosiasi dengan spons dan organisme laut lainnya. Spesies ini pernah diisolasi dari spons *Suberea* yang dikoleksi di perairan Wakatobi, Sulawesi Tenggara, Indonesia, dan diketahui menghasilkan senyawa turunan sitrinin dengan aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis* JH642 dengan MIC sebesar $16 \mu\text{g/mL}$ (Sabdaningsih *et al.*, 2020). Selain itu, *P. citrinum* strain SCSIO 41017 juga berhasil diisolasi dari spons laut *Callyspongia* yang dikoleksi di pesisir Guangdong, Tiongkok, dan dilaporkan menghasilkan senyawa poliketida serta steroid baru dengan aktivitas antimikroba sebesar $125\text{--}250 \mu\text{g/mL}$ (Salendra *et al.*, 2021). Isolat *P. citrinum* strain VM6 juga diperoleh dari lingkungan laut Vietnam, menghasilkan metabolit sekunder dengan potensi aktivitas antimikroba dan sitotoksik terhadap sel kanker A549, MCF-7, MDA-MB-231, HeLa, dan AGS dengan nilai IC_{50} antara $6,7 \pm 0,2$ hingga $29,6 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$ (Anh *et al.*, 2024). Hal tersebut menunjukkan bahwa *P. citrinum* memiliki kemampuan adaptasi yang luas di lingkungan laut tropis dan subtropis serta berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif baru.

Pada penelitian ini dilakukan fermentasi jamur *P. citrinum* SP 4-2 dalam media nasi dengan penambahan garam (*artificial sea salts water broth*) dan tanpa penambahan garam. Hal ini didasarkan pada konsep OSMAC (*One Strain–Many Compounds*) yang menyatakan bahwa perubahan kondisi kultur, termasuk variasi salinitas, mampu mengaktifkan klaster gen biosintetik yang sebelumnya tidak terekspresi (*silent gene clusters*), sehingga dapat menghasilkan keragaman metabolit baru (Cadar *et al.*, 2025; Pohan *et al.*, 2023).

Didukung oleh penelitian Wang *et al.* (2011) yang melaporkan adanya pengaruh stres salinitas tinggi terhadap produksi metabolit sekunder pada jamur laut *Spicaria elegans*. Jamur yang diisolasi dari sedimen laut ini menunjukkan perubahan profil metabolit sekunder yang signifikan ketika dikultur pada media dengan salinitas berbeda (3 dan 10 g/L). Pada kondisi salinitas tinggi (10 g/L), jamur menghasilkan metabolit baru yang tidak diproduksi pada salinitas rendah (Wang *et al.*, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan salinitas dapat menghasilkan keragaman metabolit baru pada jamur. Sehingga, pada penelitian ini dihipotesiskan bahwa penambahan garam pada media fermentasi *P. citrinum* SP 4-2 akan memodulasi jalur biosintesis metabolit sekunder dan menghasilkan perbedaan profil metabolit dibandingkan fermentasi tanpa garam. Setelah proses fermentasi, dilakukan ekstraksi dan ekstraksi cair-cair hingga menghasilkan ekstrak metanol yang digunakan lebih lanjut untuk analisis dan *bioassay*. Hal ini dikarenakan metanol sebagai pelarut polar mampu melarutkan berbagai senyawa polar, termasuk alkaloid dan flavonoid yang berperan dalam hasil skrining fitokimianya (Wulandari *et al.*, 2025). Sedangkan, pelarut n-heksana memiliki karakteristik non-polar yang dominan melarutkan senyawa seperti minyak dan lemak dengan berat molekul yang relatif besar. Keberadaan senyawa ini dapat menghambat proses difusi dan menghalangi penetrasi senyawa aktif antimikroba ke dalam sel (Lee *et al.*, 2024). Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekstrak metanol menunjukkan persentase inhibisi tertinggi pada uji aktivitas antioksidan dibandingkan fraksi n-heksana (Ahmed *et al.*, 2015).

Hasil penelitian pada skrining fitokimia menunjukkan bahwa meskipun tidak teramati munculnya metabolit baru secara eksplisit, terdapat perbedaan kualitatif pada profil metabolit sekunder yang ditunjukkan oleh terdeteksinya senyawa polifenol dan triterpenoid hanya pada ekstrak hasil fermentasi dengan penambahan garam. Adanya senyawa polifenol dan triterpenoid pada ekstrak hasil fermentasi dengan penambahan garam memperkuat konsep OSMAC bahwa variasi salinitas berperan dalam memodulasi jalur biosintesis metabolit sekunder *P. citrinum* SP 4-2. Penambahan garam dalam media fermentasi dapat berperan sebagai faktor stres lingkungan yang mendorong aktivasi jalur biosintesis polifenol dan triterpenoid yang tidak terdeteksi pada kondisi fermentasi tanpa garam. Namun, pada studi ini terbatas hanya pada perubahan komposisi dan proporsi relatif metabolit, bukan pembentukan metabolit baru secara struktural. Perbedaan hasil antara penelitian Wang *et al.* (2011) dan studi ini diduga dipengaruhi oleh perbedaan desain eksperimen, termasuk jenis spesies jamur, tingkat salinitas yang digunakan, serta pendekatan analisis metabolit. Penelitian Wang *et al.* menggunakan variasi salinitas yang lebih ekstrem serta analisis metabolomik yang lebih mendalam, sehingga mampu mendeteksi kemunculan metabolit baru. Sedangkan, penelitian ini menggunakan pendekatan skrining fitokimia kualitatif, sehingga perubahan metabolit yang teramati terbatas pada tingkat kelas senyawa. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menguatkan konsep OSMAC pada tingkat modulasi biosintesis metabolit, namun juga menegaskan keterbatasan studi ini dalam mengungkap aktivasi kluster gen biosintetik secara spesifik.

Pada uji antioksidan diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa kedua ekstrak *P. citrinum* SP 4-2 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 64,72 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media dengan penambahan garam dan sebesar 80,37 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media tanpa penambahan garam. Perbandingan ini mengindikasikan bahwa perbedaan kondisi media (dengan atau tanpa garam) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tingkat

aktivitas antioksidan keseluruhan ekstrak. Dari hasil skrining fitokimia adanya kandungan flavonoid berperan sebagai penangkap radikal bebas (*free-radical scavenging*) melalui kemampuan mendonorkan atom hidrogen atau elektron sehingga berkontribusi terhadap nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh pada uji DPPH (Chakraborty *et al.*, 2021; Hassanpour & Doroudi, 2023). Peran senyawa alkaloid pada aktivitas antioksidan disebabkan oleh karbonil yang dapat menarik elektron dari karbon alfa sehingga karbon alfa bermuatan parsial positif dan hidrogen alfa yang terikat pada karbon alfa mudah lepas dan berikatan dengan DPPH, hingga terjadi reaksi penangkapan radikal bebas (Sarjono dkk., 2025). Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa ekstrak *P. citrinum* menunjukkan adanya kandungan alkaloid, tanin, flavonoid, fenolik, terpenoid, dan steroid. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut mengindikasikan bahwa *P. citrinum* berpotensi tinggi sebagai sumber metabolit sekunder bioaktif dengan aktivitas antioksidan sebesar $0,32 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ (Nischitha & Shivanna, 2022).

Uji toksisitas menunjukkan hasil bahwa nilai LC_{50} ekstrak yang diperoleh dari hasil fermentasi pada media dengan penambahan garam dan tanpa penambahan garam tergolong rendah (sangat toksik), dengan nilai LC_{50} berturut-turut sebesar $19,33 \pm 1,53$ dan $51,02 \pm 5,12 \mu\text{g/mL}$. Kedua perlakuan menunjukkan kategori aktivitas toksisitas yang sama kuat, namun nilai LC_{50} yang jauh lebih rendah pada ekstrak hasil fermentasi pada media dengan penambahan garam menunjukkan adanya variasi tingkat toksisitas antara kedua perlakuan. Perbedaan ini diduga berkaitan dengan perubahan komposisi metabolit sekunder yang dihasilkan akibat perbedaan kondisi kultur. Pada media dengan penambahan garam, terdeteksinya senyawa polifenol dan triterpenoid menunjukkan adanya aktivasi jalur biosintesis tambahan yang tidak teramati pada media tanpa garam. Hasil ini sejalan dengan berbagai penelitian lain yang melaporkan bahwa senyawa triterpenoid dan polifenol memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel kanker. Beberapa triterpenoid yang diisolasi dari biji alpukat (*Persea americana*) dilaporkan mampu menghambat proliferasi sel kanker payudara (MCF-7) dan hati (HepG2) dengan nilai IC_{50} berkisar antara $12\text{--}62 \mu\text{g/mL}$ (Olatunde *et al.*, 2025). Senyawa fenolik tertentu juga dilaporkan memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker kolorektal, di mana fraksi yang kaya polifenol menunjukkan aktivitas antiproliferatif dan sitotoksik terhadap sel HT-29 dan Caco-2 (Okafor *et al.*, 2021). Hasil uji BSLT tidak hanya digunakan sebagai indikator toksisitas, tetapi juga umum digunakan sebagai skrining awal potensi antikanker. Studi-studi sebelumnya telah menegaskan adanya korelasi positif antara toksisitas tinggi pada *Artemia salina* dengan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (Karchesy *et al.*, 2016). Korelasi ini juga diperkuat oleh penelitian pada jamur endofit, Anam *et al.* (2022) melaporkan bahwa salah satu isolat jamur endofit yang diperoleh, yaitu isolat D5 yang diduga nasial dari genus *Penicillium* berdasarkan pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT menunjukkan bahwa isolat D5 memiliki aktivitas toksik yang sangat kuat terhadap larva *Artemia salina*, dengan nilai LC_{50} sebesar $8,78 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$. Tingginya aktivitas toksik ini mengindikasikan bahwa jamur endofit yang diduga sebagai *P. citrinum* mampu menghasilkan metabolit sekunder bioaktif yang berpotensi bersifat sitotoksik, sehingga dapat dikaji lebih lanjut sebagai kandidat sumber senyawa antikanker (Anam *et al.*, 2022).

SIMPULAN

Jamur laut *P. citrinum* SP 4-2 berhasil diisolasi dari spons *Scleractinia* sp., yang dikoleksi dari Perairan Amed, Bali dan teridentifikasi secara molekuler dengan tingkat kesamaan yang tinggi berdasarkan sekuens ITS. Variasi kondisi kultur melalui penambahan garam pada media fermentasi nasi, sesuai dengan pendekatan OSMAC, memengaruhi profil metabolit sekunder yang dihasilkan, ditandai dengan terdeteksinya senyawa polifenol dan triterpenoid hanya pada ekstrak hasil fermentasi dengan penambahan garam. Meskipun tidak teramati pembentukan metabolit baru secara struktural, perubahan komposisi metabolit menunjukkan adanya modulasi jalur biosintesis akibat tekanan osmotik. Kedua ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, yang diduga berkontribusi dari keberadaan flavonoid dan alkaloid sebagai senyawa penangkap radikal bebas. Uji toksisitas BSLT menunjukkan bahwa kedua ekstrak tergolong memiliki aktivitas toksisitas sangat tinggi berdasarkan nilai $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, dengan ekstrak hasil fermentasi pada media bergaram memiliki potensi toksik yang lebih tinggi. Hasil ini menegaskan potensi *P. citrinum* SP 4-2 sebagai sumber metabolit sekunder bioaktif yang dapat dijadikan untuk pengembangan senyawa antioksidan dan kandidat obat antikanker serta menunjukkan bahwa modifikasi kondisi kultur dapat dimanfaatkan sebagai strategi awal dalam eksplorasi senyawa aktif, meskipun diperlukan penelitian lanjutan untuk identifikasi senyawa dan mekanisme biosintesisnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Udayana atas bantuan pendanaan yang diperoleh melalui hibah Penelitian/Riset Kampus Merdeka dengan nomor kontrak: B/266.46/UN14.4A/PT.01.03/2024 dan B/230.58/UN14.4.A/PT.01.03/2025. Apresiasi juga disampaikan kepada Kelompok Riset *Marine Natural Products*, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas dukungan dan fasilitasi dalam pelaksanaan penelitian melalui program MBKM Riset Tahun 2024 dan 2025. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Pemerintah Kabupaten Karangasem atas izin dan kerja sama dalam proses pengambilan sampel penelitian.

KEPUSTAKAAN

- Ahmed D, Khan MM, Saeed R. 2015. Comparative analysis of phenolics, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from *Adiantum caudatum* leaves. *Antioxidants* **4**(2): 394–409.
- Aksono EB, Latifah AC, Suwanti LT, Haq KU, Pertiwi H. 2022. Clove Flower Extract (*Syzygium aromaticum*) Has Anticancer Potential Effect Analyzed by Molecular Docking and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Veterinary Medicine International* 1-7.
- Anam S, Syamsidi A, Ambianti N, Widodo A, Zubair MS. 2022. *Isolation of endophytic fungi from benalu batu (Begonia Medicinalis) and their toxicity on Artemia Salina*. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition* 20–30.
- Anh NM, Huyen VTT, Quyen VT, Dao PT, Quynh DT, Huong DTM, Van Cuong P, Dat TTH, Minh LTH. 2024. Antimicrobial and Cytotoxic Secondary Metabolites from a Marine-Derived Fungus *Penicillium Citrinum* VM6. *Current Microbiology* **81**(32): 1-11.
- Ariantari NP, Leliqia NPE, Putra IPYA, Nugraheni N, Jenie RI, Meiyanto E. 2024. Endophytic fungi from red ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) as promising source of antimicrobial and cytotoxic secondary metabolites. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **14**(11): 100–110.
- Ariantari NP, Putra IPYA, Leliqia NPE, Yustiantara PS, Proborini MW, Nugraheni N, Zulfin UM, Jenie RI, Meiyanto E. 2023. Antibacterial and cytotoxic secondary metabolites from

- endophytic fungi associated with *Antidesma bunius* leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **13(7)**: 132–143.
- Ariantari NP, Putra IPYA, Wibowo JT, Putri SAMDA, Nabila CIB, Kristiani NKA, Wirasuta IMAG. 2024. Evaluation of Antibacterial and Toxicity Properties of Marine Endophytic Fungi from Red Algae *Gracilaria Salicornia* and *Chondrus sp.* *BIO Web of Conferences* **92**.
- Bastian S, Rotinsulu H, dan Fatimawali. 2018. Uji Aktivitas Antimikroba dari Jamur Laut yang Nasiosiasi Dengan Spons *Callyspongia sp.* *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi* **7(3)**: 311-320.
- Cadar E, Popescu A, Dragan AML, Pesterau AM, Pascale C, Anuta V, Prasacu I, Velescu BS, Tomescu CL, Bogdan-Andreescu CF, Sirbu R, Ionescu AM. 2025. Bioactive Compounds of Marine Algae and Their Potential Health and Nutraceutical Applications: A Review. *Marine Drugs* **23(4)**: 1-67.
- Chakraborty A, Majumdar S, and Bhowal J. 2021. Phytochemical screening and antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of different filamentous fungi. *Archives of Microbiology* **203**: 6091–6108.
- Hassanpour SH and Doroudi A. 2023. Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine* **13(4)**: 354-376.
- Houbraken J, Frisvad JC, and Samson RA. 2010. Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. *Fungal Diversity* **44**:117–133.
- Houbraken J, Frisvad JC, and Samson RA. 2011. Taxonomy of *Penicillium* section Citrina. *Studies in Mycology* **70**: 53–138.
- Karchesy YM, Kelsey RG, Constantine G, Karchesy JJ. 2016. Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *SpringerPlus* **5(1)**: 1-9.
- Kjer J, Debbab A, Aly AH, Proksch P. 2010. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols* **5(3)**: 479–490.
- Kong C, Wang J, Shan B, Zhang H, Qin S, and Ren C. 2025. Marine Endophytes: Biosynthetic Engines for Novel Bioactive Metabolites. *Frontiers in Microbiology* **16**: 1-15.
- Lee JE, Jayakody JTM, Kim JI, Jeong JW, Choi KM, Kim TS, Seo C, Azimi I, Hyun JM, Ryu BM. 2024. The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods* **13(19)**: 1-21.
- Lv F, Zeng Y. 2024. Novel Bioactive Natural Products from Marine-Derived *Penicillium* Fungi: A Review (2021–2023). *Marine Drugs* **22(5)**: 1-36.
- Nischitha R, Shivanna MB. 2022. Screening of secondary metabolites and antioxidant potential of endophytic fungus *Penicillium citrinum* and host *Digitaria bicornis* by spectrophotometric and electrochemical methods. *Archives of Microbiology* **204(4)**: 1-13.
- Okafor JNC, Rautenbach F, Meyer M, Roes-Hill ML, Harris T, and Jideani VA. 2021. Phenolic content, antioxidant, cytotoxic and antiproliferative effects of fractions of *Vigna subterraenea* (L.) verde from Mpumalanga, South Africa. *Heliyon* **7(1)**: 1-9.
- Olatunde OZ, Yong J, Tian D, and Lu C. 2025. Comprehensive review of plant-derived triterpenoid types, structures and cytotoxicity: an update from 2015 to 2024. *Organic & Biomolecular Chemistry* **23(1)**: 5929–605.
- Pohan DJ, Marantuan RS, Djojoputro M. 2023. Toxicity Test of Strong Drug Using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method. *International Journal of Health Sciences and Research* **13(2)**: 203–209.
- Pujiastuti E dan Islamiyati R. 2021. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Air Ranting Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Dengan Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy* **5(2)**: 135-144.
- Putra IPYA, Ariantari NP, Wibowo JT, Leliqia NPE, Dwija IBNP, Wulandari NMW, et al. 2025. *Phyllospongia foliascens*-Derived Fungi: Molecular Identification, Antimicrobial Activity and Secondary Metabolite Profile of Their Methanolic Extracts. *BIO Web of Conferences* **176**: 1-12.
- Sabdaningsih A, Liu Y, Mettal U, Heep J, Riyanti, Wang L, Cristianawati O, Nuryadi H, Sibero MT, Marner M, Radjasa OK, Sabdono A, Trianto A. 2020. A New Citrinin Derivative from the Indonesian. *Marine Drugs* **18(227)**: 1–12.
- Salendra L, Lin X, Chen W, Pang X, Luo X, Long J, Liao S, Wang J, Zhou X, Liu Y, Yang B. 2021. Cytotoxicity of polyketides and steroids isolated from the sponge-associated fungus *Penicillium citrinum* SCSIO 41017. *Natural Product Research* **35(6)**: 900–908.
- Sarjono PR, Laksmiastari ND, Asy'ari M, Ngadiwiyana, Ismiyarto, dan Fachriyah E. 2025. Aktivitas antioksidan dan antibakteri dari alkaloid bakteri endofit *Pseudomonas hibiscicola* Wk asal daun waru (*Hibiscus tiliaceus*). *Jurnal Penelitian Saintek* **30(1)**: 11-26.

- Wang Y, Lu Z, Sun K, Zhu W. 2011. Effects of high salt stress on secondary metabolite production in the marine-derived fungus *Spicaria elegans*. *Marine Drugs* **9**(4): 535–542.
- Wiese J, Ohlendorf B, Blumel M, Schmaljohann R, and Johannes FI. 2011. Phylogenetic Identification of Fungi Isolated from the Marine Sponge *Tethya aurantium* and Identification of Their Secondary Metabolites. *Marine Drugs* **9**: 561-585.
- Wulandari NMW, Dwijayanti NK, Putri NPAE, Putra IPYA, Leliqia NPE, Wibowo JT, Dwija IBNP, Ariantari NP. 2025. Bioactivities and Molecular Identification from Marine Sediment-Derived Fungi Isolated from Amed and Tulamben Beaches. *Jurnal Ilmiah Medicamento* **11**(1): 74–85.