

BIOAKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI SPONS DI PANTAI AMED

A. A. A. V. T. Kusuma¹, I M. A. K. Adi¹, K. T. N. Dewi¹, A. A. I. P. Suari¹,
N. P. Ariantari^{1,2}, J. T. Wibowo^{3,4}, dan N. P. E. Leliqia^{1,2*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
Jl. Raya Kampus Unud, Jimbaran, Badung, Indonesia

²Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus Unud, Jimbaran, Badung, Indonesia

³Pusat Penelitian Vaksin dan Obat-Obatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN),
KST Soekarno Jl. Raya Bogor KM. 46, Cibinong, Bogor, Indonesia

⁴STIKES Mamba'ul 'Ulum Surakarta. Jl. Ring Road Utara KM 0.3,
Tawang Sari Mojosongo Surakarta (57127)

*Email: eka_leliqia@unud.ac.id

Article Received on: 2nd January 2026

Revised on: 30th January 2026

Accepted on: 31st January 2026

ABSTRAK

Jamur endofit adalah mikroorganisme yang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder bioaktif dan dapat ditemukan pada spons laut. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi dan mengevaluasi aktivitas biologis jamur endofit yang diisolasi dari spons laut Pantai Amed, Bali. Setelah diisolasi, isolat diidentifikasi molekuler dan difermentasi pada media beras dengan dan tanpa garam. Pada akhir fermentasi, metabolit sekunder diekstraksi dengan etil asetat, kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan metanol:air dan n-heksana. Ekstrak metanol dianalisis kandungan fitokimianya serta diuji aktivitas antimikroba, antioksidan, dan toksisitasnya dengan menggunakan metode difusi cakram, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), dan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada penelitian ini diperoleh dua isolat jamur. Hasil identifikasi molekuler dari daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) menunjukkan isolat tersebut memiliki hubungan terdekat dengan *Talaromyces pinophilus* dan *Talaromyces purpureogenus*. Skrining fitokimia menunjukkan semua ekstrak jamur mengandung alkaloid dan polifenol. Ekstrak *T. pinophilus* bermedia garam mampu menghambat *Streptococcus mutans* sedangkan media tanpa garam menghambat *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak *T. purpureogenus* bermedia garam hanya memberikan hambatan terhadap *S. epidermidis* sedangkan media tanpa garam menghambat *S. mutans* dan *S. epidermidis*. Aktivitas antioksidan dan toksisitas tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak *T. purpureogenus* dengan media garam. Penelitian ini menunjukkan bahwa jamur endofit dari spons laut berpotensi sebagai sumber metabolit bioaktif dengan aktivitas antioksidan dan toksisitas untuk pengembangan obat alami.

Kata kunci: antimikroba, antioksidan, toksisitas, senyawa bioaktif, jamur laut

ABSTRACT

Endophytic fungi from marine sponges have the potential to produce bioactive secondary metabolites. This study aims to identify and evaluate the biological activity of endophytic fungi isolated from marine sponges at Amed Beach, Bali. After isolation, the isolates were molecularly identified and fermented on rice media with and without salt. Following fermentation, ethyl acetate was used to extract secondary metabolites, while methanol:water and n-hexane were used for liquid-liquid extraction. The disc diffusion method, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) were used to assess the phytochemical composition of the methanol extract as well as its antimicrobial, antioxidant, and toxic properties. In this study, two fungal isolates were obtained. Molecular identification results from the Internal Transcribed Spacer (ITS) region showed that these isolates were most closely related to *Talaromyces pinophilus* and *Talaromyces purpureogenus*. Phytochemical screening showed that all fungal extracts contained alkaloids and polyphenols. Salt-based *T. pinophilus* extracts inhibited *Streptococcus mutans*, while salt-free extracts inhibited *Staphylococcus epidermidis*. Salt-based *T. purpureogenus* extracts only inhibited *S. epidermidis*, salt-free extracts inhibited *S. mutans* and *S. epidermidis*. The highest antioxidant activity and toxicity were shown by *T. purpureogenus* extracts in salt-containing media. This study shows that endophytic fungi from marine sponges are potential sources of bioactive metabolites with antioxidant and toxic activities for natural medicine development.

Keywords: antimicrobials, antioxidants, toxicity, bioactive compounds, marine fungi

PENDAHULUAN

Jamur endofit adalah mikroorganisme yang terdapat di dalam jaringan inang. Jamur ini memperoleh nutrisi dari inangnya dan menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang berperan dalam melindungi jaringan inang dari serangan patogen, sehingga hubungan keduanya dikenal sebagai simbiosis mutualisme (Hasanah *et al.*, 2023). Selain itu, jamur endofit juga berkontribusi dalam meningkatkan ketahanan inang terhadap berbagai stres lingkungan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa jamur endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sejenis atau identik dengan senyawa yang dihasilkan oleh inangnya. Kesamaan ini menyebabkan jamur endofit berpotensi menjadi sumber alternatif senyawa bioaktif tanpa harus mengeksploitasi organisme inang secara langsung. Perhatian terhadap potensi jamur endofit meningkat sejak keberhasilan isolasi *paclitaxel* dari jamur endofit yang berasosiasi dengan tanaman *Pacific yew* pada tahun 1993. Sejak saat itu, kajian jamur endofit berkembang tidak hanya pada tanaman darat, tetapi juga pada organisme laut, termasuk spons (Eltivitasari *et al.*, 2021).

Spons laut (Porifera) merupakan salah satu organisme laut yang dikenal sebagai habitat bagi berbagai mikroorganisme, termasuk jamur endofit. Selain berperan penting dalam ekosistem laut sebagai penyaring partikel makanan, spons juga menyediakan lingkungan mikro yang stabil bagi pertumbuhan mikroorganisme asosiasinya (Beepat *et al.*, 2020). Keanekaragaman dan distribusi spons sangat dipengaruhi oleh karakteristik perairan, seperti kejernihan, arus laut, dan kondisi substrat. Indonesia, sebagai negara kepulauan yang berada di wilayah tropis, dikenal sebagai salah satu pusat keanekaragaman hayati laut dunia (Haedar *et al.*, 2016). Kondisi ini menjadikan wilayah pesisir Indonesia, termasuk Pantai Amed, Bali, sebagai habitat potensial bagi spons dan mikroorganisme simbiosis penghasil metabolit sekunder. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan keberadaan jamur endofit pada spons laut yang berasal dari perairan Pantai Amed dan wilayah sekitarnya. Putra *et al.* (2025), melaporkan bahwa jamur endofit yang diisolasi dari spons *Phyllospongia foliascens* di perairan Amed menunjukkan aktivitas antimikroba serta menghasilkan metabolit sekunder dengan potensi biologis yang menjanjikan. Penelitian lain oleh Wulandari *et al.* (2025), juga menunjukkan bahwa fungi laut yang diisolasi dari sedimen perairan Amed dan Tulamben memiliki keanekaragaman yang tinggi serta aktivitas bioaktif terhadap mikroorganisme patogen. Temuan tersebut

mengindikasikan bahwa lingkungan perairan Amed merupakan sumber potensial mikroorganisme laut penghasil senyawa bioaktif.

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang ditemukan pada spons kemungkinan besar diproduksi oleh mikroorganisme simbiosisnya, termasuk jamur endofit. Salah satu contoh adalah jamur endofit *Penicillium verruculosum* yang diisolasi dari spons *Spongia officinalis*, yang dilaporkan mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas biologis signifikan, termasuk aktivitas antikanker yang kuat terhadap sel leukemia HL-60 (Kaliaperumal *et al.*, 2023). Berbagai penelitian melaporkan bahwa ekstrak spons dan mikroorganisme endofit yang berasosiasi dengannya memiliki aktivitas farmakologis yang luas, antara lain sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan, serta penghambat aktivitas enzim. Aktivitas antimikroba spons telah dilaporkan efektif terhadap beberapa mikroorganisme patogen, seperti bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* DSM32T, dan pada jamur *Candida albicans* (Damanis *et al.*, 2019; Palungan *et al.*, 2022). Potensi ini menunjukkan bahwa biota laut, khususnya spons dan jamur endofit yang berasosiasi dengannya, berpotensi besar dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami.

Identifikasi molekuler dalam penelitian jamur endofit diperlukan untuk memastikan ketepatan penentuan spesies dari jamur endofit. Pendekatan ini umumnya dilakukan melalui analisis urutan DNA serta filogenetik yang diperoleh menggunakan penanda genetik tertentu. Identifikasi menggunakan wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) karena marka molekuler tersebut telah direkomendasikan sebagai DNA *barcode* universal bagi fungi (Zakaria *et al.*, 2018). ITS menjadi pilihan utama karena mudah diamplifikasi, telah banyak digunakan, dan memiliki *barcode gap* yang jelas antara variasi antarspesies dan dalam spesies. Atas dasar karakteristik tersebut, Konsorsium *International Fungal Barcoding* menetapkan ITS sebagai *barcode* standar untuk identifikasi jamur (Terna *et al.*, 2024).

Meskipun sejumlah penelitian telah melaporkan potensi jamur endofit spons dari perairan Amed dan sekitarnya, kajian yang mengombinasikan pengujian bioaktivitas dengan identifikasi molekuler berbasis ITS masih relatif terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji bioaktivitas serta mengidentifikasi jamur endofit yang diisolasi dari spons laut di Pantai Amed melalui pendekatan molekuler, sebagai upaya memperkaya informasi ilmiah serta mendukung

eksplorasi sumber senyawa alami bernilai farmakologis.

MATERI DAN METODE

Bahan

Media Agar diformulasikan dengan menggunakan *malt extract* (Himedia®, India), *yeast extract* (Oxoid®, Prancis), Bacto agar (Difco BD®, Maryland, Amerika Serikat), kaldu garam air laut buatan (Himedia®, India), dan gliserol (Vivantis®, Malaysia). Media beras (Putri Sejati®, Indonesia), baik dengan atau tanpa kaldu garam air laut buatan (Himedia®, India). Untuk pengujian antimikroba digunakan Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (Himedia®, India), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Oxoid®, Prancis), Mueller-Hinton Broth (MHB) (Himedia®, India), dan Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid®, Prancis). Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol (Nalgene®, Amerika Serikat) dan ketokonazol (Zoralin®, Indonesia). Uji antioksidan menggunakan DPPH (Smart-Lab®, Indonesia), dan asam askorbat (Supelco®, Jerman). Etil asetat (teknis), n-heksana (teknis), dan metanol (teknis) digunakan untuk proses ekstraksi hasil fermentasi. Untuk identifikasi molekuler, komponen yang digunakan adalah primer (ITS1 dan ITS4), DNA polimerase, air bebas nuklease (Thermo Scientific, Lithuania), agarosa (1st BASE®, Singapura), dan *buffer* tris-asetat-EDTA (TAE) (1st BASE®, Singapura).

Peralatan

Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *microplate reader* (Thermo Scientific®, Lithuania). Untuk proses ekstraksi DNA, digunakan *Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit* (Zymo Research®, Amerika Serikat).

Cara Kerja

Koleksi Sampel

Sampel spons laut diperoleh pada bulan Juni 2024 dari Pantai Amed di Kecamatan Abang yang terletak di Kabupaten Karangasem, dengan koordinat 8°16'32.5 "LS 115°35'34.8 "BT. Sampel disimpan dalam plastik steril dan disimpan dalam kotak koleksi. Proses selanjutnya dilakukan di Laboratorium Molekuler dan Forensik Universitas Udayana.

Isolasi Jamur Endofit Dari Spons Laut

Jamur yang diperoleh dari spons laut diisolasi menggunakan protokol yang telah tersedia (Wulandari *et al.*, 2025). Media agar yang dipakai dalam proses isolasi terdiri atas *malt extract*, Bacto agar, *artificial sea water salts*, serta kloramfenikol

yang dilarutkan dalam akuades. Selain itu, digunakan pula media berbasis beras, baik yang mengandung maupun tidak mengandung garam air laut buatan. Sebanyak 1–2 gram spons laut diinokulasikan pada media agar dan media beras, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C (suhu ruang) dengan waktu tujuh hari. Selanjutnya, koloni jamur yang menunjukkan perbedaan morfologi dipindahkan secara terpisah ke media agar segar untuk proses pemurnian. Media yang digunakan pada tahap pemurnian terdiri dari *malt extract*, Bacto Agar, dan kaldu garam air laut buatan dalam akuades.

Identifikasi molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan dengan membandingkan sekuens DNA dari daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS), menggunakan ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') sebagai *primer forward* dan ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *primer reverse*. Sebelum melakukan reaksi berantai polimerase (PCR), DNA jamur diekstraksi dengan mengikuti petunjuk dari Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit. Daerah ITS dari DNA yang diekstraksi diamplifikasi menggunakan Labcycler 48 Thermocycler dalam campuran reaksi yang mengandung masing-masing 1 µL primer ITS1 dan ITS4, 20 µL DNA polimerase, 17 µL air bebas nuklease, dan 1 µL DNA jamur yang diekstraksi sebagai *template*. Kondisi PCR meliputi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 1,5 menit, diikuti dengan 35 siklus denaturasi (95°C), *annealing* (56°C), dan ekstensi (72°C), masing-masing berlangsung selama 1 menit, dengan langkah ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 15 menit. Produk PCR kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 1% dalam *buffer* TAE 10× (Tris-asetat-EDTA) pada 75 volt selama 45 menit. Hasil dikirim ke Laboratorium Ilmu Genetika untuk disekuensing. Sekuens yang diperoleh dianalisis dengan membandingkannya dengan sekuens nukleotida dalam database NCBI GenBank menggunakan alat BLAST. Penjajaran sekuens dilakukan dengan menggunakan metode MUSCLE, dan pohon filogenetik dibangun menggunakan perangkat lunak MEGA versi 11.0.11 dengan metode pensejajaran tetangga (*neighbor-joining*) dan 1.000 ulangan *bootstrap* (Wulandari *et al.*, 2025).

Fermentasi dan Ekstraksi

Setiap isolat jamur dibiakkan pada media berbasis beras, baik dengan maupun tanpa garam air laut buatan. Media beras terdiri dari 100 g beras dan 110 mL akuades, dengan 3,8 g *artificial sea water salts* yang ditambahkan hanya pada varian *salt*.

Agar yang mengandung isolat jamur murni diiris dan disebar ke seluruh permukaan media beras. Hal ini dikerjakan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Sampel kemudian diinkubasi pada suhu kamar hingga miselia jamur memenuhi media beras sepenuhnya. Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi sampel terfermentasi dengan menambahkan etil asetat sebanyak 500 mL, kemudian diletakkan di *shaker* pada kecepatan 150 rpm dalam waktu 8 jam. Filtrat hasil ekstraksi selanjutnya disaring dan dipekatkan melalui *rotary evaporator* untuk membuang pelarut. Ekstrak kasar selanjutnya diekstraksi kembali dengan ekstraksi cair-cair menggunakan campuran 2:1 antara metanol (dengan 10% air) dan n-heksana. Fase metanol dianalisis untuk mengetahui senyawa bioaktifnya dan diuji aktivitas biologisnya (Putra *et al.*, 2025).

Skrining Fitokimia

Larutan ekstrak dengan konsentrasi 6 mg/mL digunakan untuk uji skrining fitokimia guna mengidentifikasi alkaloid, terpenoid, steroid, triterpenoid, saponin, polifenol, dan flavonoid. Deteksi alkaloid dilakukan dengan pereaksi Dragendorff, Wagner, dan Bouchardat. Sebanyak 100 μ L ekstrak dicampur dengan 100 μ L HCl 2N, kemudian ditambahkan masing-masing tiga tetes pereaksi. Terbentuknya endapan oranye pada Dragendorff, endapan putih hingga kuning pada Wagner, serta endapan coklat hingga hitam pada Bouchardat menandakan hasil positif. Untuk uji terpenoid, 200 μ L ekstrak dicampur dengan 100 μ L kloroform dan 100 μ L asam sulfat pekat. Munculnya warna coklat kemerahan pada lapisan atas menunjukkan keberadaan terpenoid. Steroid dan triterpenoid diuji menggunakan reaksi Liebermann–Burchard. Warna hijau kebiruan mengonfirmasi keberadaan steroid, sedangkan terbentuknya cincin berwarna coklat atau ungu pada batas kedua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid. Saponin diuji dengan mengocok 200 μ L ekstrak selama beberapa detik, kemudian ditambahkan setetes HCl 2N. Pembentukan busa stabil mengindikasikan hasil positif. Untuk polifenol, 200 μ L ekstrak direaksikan dengan FeCl_3 10%. Perubahan warna menjadi biru tua, biru kehitaman, atau hijau kehitaman menunjukkan adanya polifenol. Deteksi flavonoid dilakukan dengan menguapkan 200 μ L ekstrak, kemudian ditambah masing-masing aseton, asam borat, asam oksalat, dan eter dengan volume yang sama. Campuran kemudian diamati di bawah sinar UV 366 nm. Fluoresensi kuning yang kuat pada plat menunjukkan keberadaan flavonoid dalam sampel (Wulandari *et al.*, 2025).

Uji Antimikroba

Uji antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram terhadap beberapa strain mikroba: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Meticilin Rensitive Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 3351, *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans* ATCC 10231. Larutan uji dibuat dengan melarutkan 50 mg ekstrak dalam 1 mL campuran metanol dan akuades (9:1), menghasilkan konsentrasi akhir 5%. Suspensi bakteri dan jamur masing-masing sebanyak 10 mL dipersiapkan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C, dengan waktu inkubasi 18–24 jam untuk bakteri dan 48–52 jam untuk jamur. Untuk pengujian, 600 μ L suspensi bakteri (setara dengan kekeruhan 0,5 McFarland) disebar pada lempeng agar untuk uji antibakteri, sedangkan 550 μ L suspensi jamur digunakan untuk uji antijamur. Cakram kemudian ditempatkan pada permukaan agar, dan 10 μ L larutan uji diaplikasikan ke setiap cakram. Metanol (10 μ L) berfungsi sebagai kontrol negatif, sedangkan kloramfenikol (30 μ g/mL) dan ketokonazol (15 μ g/mL) masing-masing digunakan sebagai kontrol positif untuk uji antibakteri dan antijamur. Cawan petri diinkubasi dalam kondisi yang sama dengan kultur awal, dan semua pengujian dilakukan sebanyak tiga replikasi (Wulandari *et al.*, 2025).

Uji Antioksidan

Radikal bebas DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl) digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan. Pengujian tersebut menggunakan 96 well plate dengan mengukur absorbansi pada λ 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol standar dengan variasi konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 12 μ g/mL, sedangkan larutan sampel dipreparasi pada kisaran konsentrasi 20 - 500 μ g/mL. Sebanyak 40 μ L larutan DPPH 0,5 mM dicampurkan dengan 160 μ L larutan sampel dalam metanol pada *microplate* 96 sumur, selanjutnya larutan diletakkan dalam ruangan gelap tanpa cahaya dan diinkubasi dengan suhu ruang dalam waktu 30 menit. Setelah inkubasi larutan diukur absorbansinya pada λ 517 nm dengan *microplate reader*. Seluruh pengujian dilaksanakan dalam tiga kali replikasi (*triplicate*) (Hasti dan Makbul, 2022).

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menetas telur *Artemia salina* pada air laut buatan (9,5 g garam laut buatan dalam 300 mL akuades) selama 48 jam di bawah lampu pijar dengan aerasi, kemudian larva sehat yang aktif dipakai untuk

pengujian. Larutan uji disiapkan dalam *microplate* 24 sumur, dimana 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 50 μL DMSO dan ditambahkan air laut buatan hingga 5 mL (2.000 $\mu\text{g/mL}$), lalu diencerkan secara seri dua kali lipat hingga konsentrasi 31,25 - 1000 $\mu\text{g/mL}$, dengan kontrol negatif berupa 1% DMSO dalam air laut buatan. Sebanyak 10 larva *A. salina* yang sehat (berdasarkan kemampuan bergerak dan mencari cahaya) dimasukkan ke setiap sumur berisi larutan uji pada konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian *microplate* ditutup dan diinkubasi pada suhu ruang di bawah lampu. Setelah 24 jam, jumlah larva hidup dan mati dihitung untuk menentukan persentase mortalitas, sedangkan nilai LC_{50} diperoleh melalui analisis probit sebagai dasar klasifikasi tingkat toksisitas ekstrak (Laksmi *et al.*, 2022).

Analisis Data

Data pada penelitian ini dianalisis dan disajikan secara deskriptif. Identifikasi molekuler dianggap benar dan valid apabila hasil analisis BLAST sekuen DNA berkualitas memiliki persentase kesamaan (*percent identity*) $\geq 99\%$, cakupan kueri (*query cover*) yang tinggi, nilai *E-value* mendekati nol, serta sesuai dengan kriteria yang telah dilaporkan dalam literatur (Hofstetter *et al.*, 2019). Aktivitas antimikroba ditetapkan melalui pengukuran diameter zona inhibisi di sekitar cakram steril menggunakan jangka sorong. Penilaian aktivitas ini mengacu pada kategori kemampuan inhibisi khusus, mencakup inhibisi lemah (<5 mm), inhibisi sedang (5-10 mm), inhibisi kuat (10-20 mm), serta inhibisi sangat kuat (>20 mm) (Wulandari *et al.*, 2025).

Aktivitas antioksidan diukur secara kuantitatif dan diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} . IC_{50} di bawah 50 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan aktivitas yang sangat kuat; nilai antara 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sebagai kuat; 101 - 250 $\mu\text{g/mL}$ sebagai moderat; 250 - 500 $\mu\text{g/mL}$ sebagai lemah; dan nilai yang melebihi 500 $\mu\text{g/mL}$ dianggap tidak aktif. IC_{50} ditentukan dengan menggunakan analisis regresi linier dari konsentrasi ekstrak terhadap persentase penghambatan.

Tingkat toksisitas ekstrak ditentukan dari persentase kematian larva *A. salina* setelah inkubasi dengan waktu 24 jam paparan pada berbagai konsentrasi uji. Data mortalitas yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode probit dengan bantuan perangkat lunak Microsoft Excel 2021 untuk mendapatkan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}). Nilai LC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi yang mampu menyebabkan kematian pada 50% larva uji. Berdasarkan kriteria uji sitotoksitas, ekstrak dapat digolongkan menjadi 4 yaitu tidak toksik ($\text{LC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$), toksisitas rendah (LC_{50} 500 - 1000 $\mu\text{g/mL}$), toksistas sedang (LC_{50} 100 - 500 $\mu\text{g/mL}$), dan toksisitas tinggi (LC_{50} 0 - 100 $\mu\text{g/mL}$) (Hamidi *et al.*, 2014).

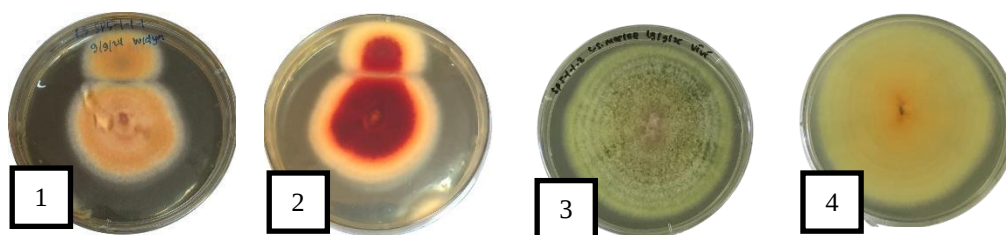
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Purifikasi Spons

Proses isolasi jamur laut dari spons yang diperoleh di perairan Amed pada Gambar 1 menghasilkan dua isolat jamur dengan kode sp 5-1-1-1 dan sp 5-1-1-2. Berdasarkan hasil pengamatan morfologi makroskopis pada media agar yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1, kedua isolat memperlihatkan perbedaan pada warna serta tekstur koloninya. Hal ini menunjukkan adanya variasi jenis jamur yang berasal dari sumber organisme laut yang sama. Perbedaan morfologi koloni pada jamur laut umumnya mencerminkan variasi spesies atau dipengaruhi oleh kondisi lingkungan saat proses isolasi berlangsung.



Gambar 1. Isolasi spons dari Amed



Gambar 2. Penampakan morfologis dari atas pada media agar isolasi jamur: sp 5-1-1-1 tampak atas (1); sp 5-1-1-1 tampak bawah (2); sp 5-1-1-2 tampak atas (3); sp 5-1-1-2 tampak bawah (4)

Tabel 1. Pengamatan Morfologi pada Media Agar

Karakteristik	sp 5-1-1-1	sp 5-1-1-2
Warna koloni (depan)	Berwarna krem keoranye dengan bagian tengah koloni lebih pekat dibandingkan tepi	Berwarna hijau hingga hijau pekat
Warna koloni (belakang)	Kuning pucat hingga oranye muda dengan bagian tengah berwarna oranye pekat	Kuning kehijauan dengan bagian tengah sedikit lebih kuning gelap
Tekstur permukaan	Beludru (<i>velvety</i>) dengan permukaan agak bergelombang	Beludru (<i>velvety</i>) dengan permukaan agak bergelombang
Bentuk tepi	Rata dan melingkar simetris	Rata dan melingkar simetris
Zona pertumbuhan	Terlihat jelas dan menyebar merata dari pusat koloni	Pertumbuhan menyebar seragam dengan zona konsentris yang tampak jelas dari pusat ke tepi.

Tabel 2. Identifikasi Molekuler dengan Menggunakan GenBank's *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) Untuk Nukleotida

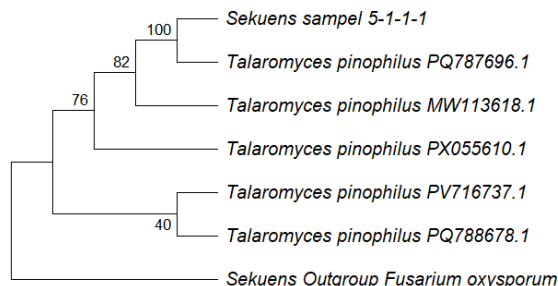
Kode Isolat	Takson dengan Hubungan Terdekat	Jumlah pasangan basa	Persentase similaritas	Query Cover	E. Value
sp 5-1-1-1	<i>Talaromyces pinophilus</i> (PQ787696)	546	99,81%	98%	0,0
sp 5-1-1-2	<i>Talaromyces purpureogenus</i> (PP385712)	566	99,63%	99%	0,0

Penentuan identifikasi molekuler dilakukan dengan menggunakan GenBank's *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) untuk nukleotida. Proses sekuensing terhadap kedua isolat menghasilkan panjang sekuen tertentu setelah dilakukan *trimming* pada hasil kromatogram. Urutan basa nitrogen yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program BLAST untuk menentukan tingkat homologi antarspesies (Wardani *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil analisis BLAST (Tabel 2), isolat sp 5-1-1-1 menunjukkan homologi tertinggi dengan *Talaromyces pinophilus* (kode akses PQ787696) dengan persentase kesamaan 99,81%, sedangkan isolat sp 5-1-1-2 memiliki homologi tertinggi dengan *Talaromyces purpureogenus* (kode akses PP385712) dengan persentase kesamaan 99,63%. Nilai kesamaan tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki kedekatan genetik yang sangat tinggi dengan spesies referensinya. Nilai *query cover* sebesar 98–99% menandakan kesesuaian urutan basa nitrogen antara sampel isolat dengan sekuen homolognya (Wardani *et al.*, 2017). Selain itu, *E-value* sebesar 0,0 mengindikasikan tingkat homologi yang sangat signifikan, karena semakin kecil nilai *E-value*, semakin tinggi tingkat kesamaan sekuen (Nestor *et al.*, 2023). Pernyataan ini sejalan dengan Hofstetter *et al.* (2019) yang menyebutkan bahwa nilai persentase kesamaan $\geq 99\%$ menunjukkan identitas spesies yang sama.

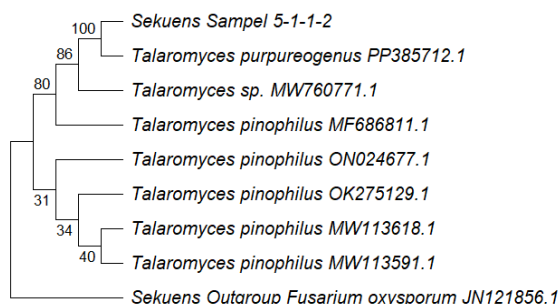
Berdasarkan hasil tersebut, isolat sp 5-1-1-1 dan sp 5-1-1-2 dapat diidentifikasi secara valid sebagai *Talaromyces pinophilus* dan *Talaromyces purpureogenus* melalui analisis genetik menggunakan BLAST.

Analisis filogeni dilakukan dengan melibatkan keseluruhan sampel yang digunakan yaitu sebanyak 2 sampel. Hasil berupa sekuens disejajarkan dengan menggunakan metode MUSCLE, dan pohon filogenetik dibangun menggunakan perangkat lunak MEGA versi 11.0.11 dengan metode *neighbor-joining* dan 1.000 ulangan *bootstrap* untuk menentukan susunan filogenetik. Hubungan filogenetik umumnya divisualisasikan dalam bentuk diagram bercabang yang menyerupai struktur pohon atau disebut sebagai pohon filogenetik. Pohon filogenetik merupakan representasi visual dari garis keturunan organisme, baik fauna maupun flora, yang memperlihatkan pola percabangan berdasarkan hubungan kekerabatan. Analisis filogenetik yang memanfaatkan data molekuler seperti DNA atau protein dapat digunakan untuk menggambarkan hubungan evolusi antar spesies. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dari 2 sampel sekuens dapat dilihat pada Gambar 3 untuk isolat sp 5-1-1-1 dan Gambar 4 untuk isolat sp 5-1-1-2. Parameter *bootstrap* digunakan untuk mengukur seberapa akurat model dataset yang diaplikasikan dalam analisis. Apabila angka *bootstrap* rendah, hal ini

menunjukkan bahwa sekuens yang digunakan untuk menyusun pohon filogenetik kurang memiliki kredibilitas. Pohon filogenetik yang memenuhi standar kualitas dan memiliki reliabilitas tinggi ditandai dengan nilai *bootstrap* yang lebih besar dari 70 (Subari *et al.*, 2021).



Gambar 3. Pohon filogenetik isolat *Talaromyces pinophilus* sp 5-1-1-1 berdasarkan perbandingan wilayah *Internal Transcribed Spacer (ITS)* menggunakan algoritma *neighbor-joining* dengan 1.000 *bootstrap*



Gambar 4. Pohon filogenetik isolat *Talaromyces purpureogenus* sp 5-1-1-2 berdasarkan perbandingan wilayah *Internal Transcribed Spacer (ITS)* menggunakan algoritma *neighbor-joining* dengan 1.000 *bootstrap*

Fermentasi dan Ekstraksi

Proses fermentasi merupakan tahapan penting dalam memperoleh metabolit sekunder dari spons laut yang diisolasi. Fermentasi metode goyang dengan menggunakan *shaker* bertujuan untuk menjaga keseimbangan aerasi dan agitasi, sehingga suplai oksigen ke dalam medium dapat meningkat serta homogenitas suhu dan konsentrasi nutrisi tetap terjaga. Hasil fermentasi kemudian disaring untuk

memisahkan produk fermentasi berupa larutan supernatan dari biomassa (Dwijayanti, 2024). Metabolit yang dihasilkan kemudian dipisahkan berdasarkan tingkat kepolaran menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat lalu dilanjutkan ekstraksi cair-cair dengan pelarut metanol (polar), n-heksana (non-polar). Perbedaan sifat kepolaran pelarut memungkinkan senyawa yang terkandung di dalamnya dapat terfraksinasi sesuai karakteristik kimianya (Sayuti, 2017). Selama proses ekstraksi, senyawa bioaktif atau bahan aktif dalam suatu sampel akan larut ke dalam pelarut hingga tercapai kondisi jenuh. Prinsip kelarutan berpedoman pada konsep *like dissolves like*, yaitu komponen polar memiliki kecenderungan untuk terlarut dalam pelarut bersifat polar, sementara komponen non-polar lebih mudah terlarut dalam pelarut yang bersifat non-polar. Penggunaan pelarut dengan kepolaran lebih rendah dapat memicu degradasi dinding sel yang juga bersifat kurang polar, sehingga memudahkan pelepasan dan ekstraksi senyawa aktif dari sampel (Permatasari *et al.*, 2020).

Hasil ekstraksi pada Tabel 3 menunjukkan adanya variasi jumlah rendemen yang diperoleh setiap isolat pada kondisi media fermentasi yang berbeda. Perbedaan pola rendemen antara kedua isolat tersebut menguatkan bahwa setiap strain memiliki respons fisiologis yang berbeda terhadap kondisi lingkungan, khususnya salinitas. Media dengan kandungan garam dapat berfungsi sebagai faktor pemicu bagi sebagian isolat, namun dapat menjadi faktor penghambat bagi isolat lain. Faktor-faktor seperti pH, suhu, dan salinitas media memengaruhi jenis metabolit yang dihasilkan. Jamur endofit laut terbiasa dengan kondisi salin, sehingga kondisi tanpa garam atau garam rendah dapat mempengaruhi metabolit tertentu (Nurazizah, 2024). Pengaturan kondisi fermentasi dan pemilihan pelarut ekstraksi yang tepat menjadi aspek krusial dalam memperoleh metabolit sekunder yang beragam dan berpotensi bioaktif (Hamidah *et al.*, 2019). Rendemen ekstrak dengan jenis pelarut berbeda juga memiliki nilai yang berbeda (Hidayah *et al.*, 2024).

Tabel 3. Jumlah Ekstrak yang Dihasilkan Setelah Fermentasi Jamur yang Berasal Dari Spons Laut

Isolat Jamur	Garam pada media	Jumlah Ekstrak (g)		
		Metanol	n-heksana	Etil asetat
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Dengan garam	0,4673	0,5265	0,9938
	Tanpa garam	0,3096	0,3664	0,676
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	Dengan garam	0,1542	0,5425	0,6967
	Tanpa garam	1,4539	0,3103	1,7642

Ekstrak etil asetat didapatkan setelah dilakukannya maserasi dan sebelum dilakukannya ekstraksi cair-cair sehingga berat ekstrak etil asetat merupakan berat awal dari ekstrak metanol dan n-heksana. Ekstraksi hasil fermentasi dilakukan secara maserasi menggunakan etil asetat sebagai pelarut dengan tujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa polar dan nonpolar yang ada dalam isolat melalui penggunaan pelarut yang memiliki sifat semipolar (Deponda *et al.*, 2019). Hasil maserasi diekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut metanol dan n-heksana. Ekstraksi menggunakan kedua pelarut tersebut dapat memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Fraksi metanol mengandung senyawa polar dan fraksi n-heksana mengandung senyawa non-polar. Hasil ekstraksi pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan berat dari masing-masing fraksi, yaitu fraksi n-heksana lebih banyak dibandingkan dengan fraksi metanol. Metanol memiliki kemampuan mengekstrak senyawa dengan variasi kepolaran yang luas, termasuk air yang terkandung dalam sampel. Faktor inilah yang diduga berkontribusi terhadap perbedaan berat rendemen ekstrak yang diperoleh (Sibero *et al.*, 2019). Ekstrak metanol digunakan untuk uji antibakteri jamur endofit karena kemampuannya mengekstrak senyawa polar-semi polar yang berpotensi sebagai agen antibakteri. Usman *et al.*, (2025) melaporkan bahwa ekstrak metanol dari miselia *Trichoderma harzianum* endofit memiliki efek antimikroba yang kuat, mendukung penggunaan pelarut polar untuk mengekstrak senyawa bioaktif. Penelitian oleh Pinheiro *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa di antara beberapa isolat jamur endofit yang diuji, ekstrak metanol dari *Exserohilum rostratum* memberikan hambatan antibakteri yang cukup baik terhadap bakteri uji. Hal ini mendukung penelitian yang menunjukkan potensi senyawa metabolit sekunder yang larut dalam metanol.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan berbagai golongan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, terpenoid, steroid, dan triterpenoid yang terdapat dalam ekstrak metanol dari produk fermentasi isolat fungi endofit yang diisolasi dari spons laut. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang diproduksi oleh tanaman dan memiliki peran biologis serta ekologis sebagai mediator komunikasi antar organisme. Senyawa ini berperan dalam interaksi tanaman dengan lingkungan maupun organisme lain, sehingga karakterisasi atau identifikasinya dapat memberikan indikasi awal mengenai potensi bioaktivitas dari isolat yang sedang diteliti (Nasrul dan Chattri, 2024). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol jamur dengan menggunakan uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil skrining fitokimia (Tabel 4) menunjukkan bahwa kedua isolat, baik yang difermentasi pada media dengan garam maupun tanpa garam, secara konsisten mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol, dan flavonoid, kecuali *T. purpureogenus* pada media tanpa garam hanya mengandung alkaloid dan polifenol. Golongan senyawa triterpenoid hanya terdeteksi pada *T. purpureogenus* pada media dengan garam. Sedangkan golongan senyawa saponin, terpenoid, dan steroid tidak terdeteksi pada seluruh isolat, baik pada media dengan maupun tanpa garam. Secara keseluruhan, hasil skrining fitokimia memperlihatkan bahwa metabolit polar, khususnya alkaloid, flavonoid, dan polifenol, merupakan senyawa dominan yang dihasilkan oleh isolat spons laut yang diteliti.

Tabel 4. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dari Isolat Jamur Endofit yang Diisolasi dari Spons Laut

Ekstrak Isolat Jamur	Garam pada Media	Jenis Metabolit Sekunder						
		Alkaloid	Flavonoid	Polifenol	Saponin	Terpena	Steroid	Triterpenoid
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Dengan garam	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Tanpa garam	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	Dengan garam	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	Tanpa garam	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

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

Menurut Westphal *et al.*, (2021) komposisi media yang digunakan untuk menumbuhkan jamur endofit laut juga mempengaruhi produksi metabolit sekunder. Kondisi lingkungan dengan garam (salinitas) berperan sebagai bentuk *abiotic stress*, hal tersebut mampu menstimulasi peningkatan produksi metabolit sekunder pada organisme endofit. Salinitas termasuk faktor pemicu utama yang mengaktifkan respons adaptif endofit, sehingga jalur biosintesis metabolit sekunder menjadi lebih intensif. *Salinity stress* bekerja sebagai *elicitor* yang memicu akumulasi fitokimia melalui peningkatan aktivitas jalur metabolik tertentu. Perlakuan garam cenderung menghasilkan ekstrak dengan jumlah dan keragaman metabolit yang lebih tinggi dibandingkan kondisi tanpa garam, mengindikasikan bahwa salinitas berfungsi sebagai faktor penguat produksi metabolit sekunder pada sistem kultur endofit (Kumar and Awanish, 2023).

Lei *et al.*, (2022) melaporkan bahwa perbedaan metabolit sekunder antar spesies bahkan dalam satu genus yang sama disebabkan oleh variasi kluster gen biosintetik (*biosynthetic gene clusters*, BGCs) yang dimiliki masing-masing spesies. Spesies *Talaromyces* dapat menghasilkan kelompok metabolit yang sangat beragam, seperti ester, poliketida, terpenoid, alkaloid, hingga senyawa nitrogen, meskipun berada dalam genus yang sama. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini dimana dua isolat dari genus yang sama menghasilkan komposisi metabolit sekunder yang tidak sama meskipun ditumbuhkan pada kondisi

media dan perlakuan fermentasi yang serupa. Hasil ini menandakan bahwa setiap spesies membawa set gen metabolit sekunder yang berbeda dan diatur secara spesifik oleh mekanisme regulasi internalnya. Selain faktor genetik, perbedaan lingkungan asal, tekanan adaptasi, serta interaksi ekologis juga memengaruhi jalur metabolik yang diaktifkan. Spesies dari genus berbeda akan memiliki perbedaan yang jauh lebih besar dalam profil metabolitnya, karena membawa BGC, jalur biosintesis, serta strategi adaptasi yang berbeda.

Uji Antimikroba

Uji antimikroba dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), dan *Candida albicans*. Uji antimikroba dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak metanol hasil fermentasi isolat jamur endofit yang diisolasi dari spons laut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Parameter yang digunakan adalah diameter zona hambat pertumbuhan mikroba (mm) yang dihasilkan isolat jamur terhadap mikroba uji Gram positif, Gram negatif, serta jamur patogen. Hasil pengujian aktivitas antimikroba dari isolat jamur endofit yang diisolasi dari spons laut menunjukkan variasi kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji. Nilai diameter zona hambat yang dihasilkan masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter Zona Hambat (mm) dari Isolat Jamur Endofit yang Diisolasi dari Spons Laut Terhadap Strain Bakteri dan Jamur yang Diuji

Ekstrak Isolat Jamur	Garam pada Media	Diameter zona hambat pertumbuhan (mm) terhadap strain mikroba (rata-rata±SD)						
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. epidermidis</i>	MRSA	<i>C. albicans</i>
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Dengan garam	(-)	(-)	(-)	0,49±0,01	(-)	(-)	(-)
	Tanpa garam	(-)	(-)	(-)	(-)	1,83±0,08	(-)	(-)
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	Dengan garam	(-)	(-)	(-)	(-)	1,69±0,46	(-)	(-)
	Tanpa garam	(-)	(-)	(-)	0,56±0,02	0,86±0,04	(-)	(-)
Kontrol positif*		18,26±0,03	18,33±0,95	22,11±0,77	19,92±0,02	17,03±0,49	8,77±0,08	21,26±0,05

Keterangan: (-) menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas antimikroba. Semua uji dilakukan dengan tiga replikasi. *Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dalam uji antibakteri, sedangkan ketokonazol digunakan sebagai kontrol positif dalam uji antijamur.

Hasil pengujian (Tabel 5) menunjukkan bahwa kedua isolat baik pada media dengan atau tanpa garam tidak memberikan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, *Methicillin-*

resistant S. aureus (MRSA), maupun *C. albicans*. Secara keseluruhan, hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari isolat jamur endofit memperlihatkan aktivitas antibakteri yang rendah

terhadap *S. mutans* maupun *S. epidermidis*. Pada *T. pinophilus* dengan media garam dan *T. purpureogenus* dengan media tanpa garam menghasilkan penghambatan pada *S. mutans*, sedangkan pada *T. pinophilus* dengan media tanpa garam dan *T. purpureogenus* menghasilkan penghambatan pada *S. epidermidis*. Pada *T. pinophilus* dihasilkan perbedaan aktivitas pada kedua kondisi media, hal ini erat kaitannya dengan jenis metabolit yang dihasilkan pada tiap kondisi. Aktivitas antimikroba dapat dipengaruhi oleh keberadaan metabolit sekunder dari masing-masing isolat yang sudah diketahui pada skrining fitokimia (Tabel 4). *T. pinophilus* mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol pada kedua kondisi media. Walaupun dari hasil skrining menunjukkan golongan senyawa sama, namun tidak berarti jenis dan jumlah senyawa yang terkandung sama. Hal ini yang diduga menyebabkan perbedaan aktivitas antibakteri.

Ekstrak *Talaromyces purpureogenus* pada kondisi media tanpa garam walaupun hanya menunjukkan 2 golongan senyawa kimia yaitu alkaloid dan polifenol (Tabel 4), namun dapat menghambat pertumbuhan 2 bakteri patogen yaitu *S. mutans* dan *S. epidermidis* (Tabel 5). Sedangkan ekstrak *T. Purpureogenus* pada kondisi media bergaram terdeteksi golongan senyawa yang lebih banyak namun hanya mampu menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* walaupun aktivitasnya lebih baik dibandingkan ekstrak dari media tanpa garam pada bakteri yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah dan jenis golongan senyawa tidak menjadi penentu dari aktivitas antibakteri kedua isolat jamur endofit. Skrining fitokimia tidak mengidentifikasi senyawa spesifik, melainkan hanya menunjukkan golongan senyawa. Karena hanya berupa golongan, aktivitas yang muncul kemungkinan berasal dari kombinasi berbagai komponen dalam golongan tersebut, atau bahkan dari komponen yang tidak terdeteksi dalam uji fitokimia. Faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri salah satu diantaranya yaitu rendemen, dimana semakin tinggi rendemen, maka kandungan metabolit sekundernya semakin banyak (Ramadhani *et al.*, 2024).

Berdasarkan penelitian Yamanaka-Okada *et al.* (2008), senyawa polifenol mampu menghambat *S. mutans* dengan menurunkan hidrofobisitas permukaan sel, menghambat pembentukan biofilm, dan pada konsentrasi tertentu menghambat pertumbuhan bakteri secara langsung. Triterpenoid

berfungsi sebagai antibakteri terhadap *S. mutans* dengan berinteraksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri. Interaksi ini membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan kerusakan struktur porin. Kerusakan porin, yang berfungsi sebagai jalur transportasi keluar-masuk berbagai senyawa, menyebabkan penurunan permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat masuknya nutrisi. Kondisi tersebut berdampak pada terhambatnya pertumbuhan bakteri hingga berujung pada kematian sel (Suryani *et al.*, 2019). Hasil penelitian Wrońska *et al.* (2022) menunjukkan bahwa senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas kuat terhadap bakteri Gram-positif, termasuk *S. epidermidis*, dengan penghambatan pertumbuhan hingga 80% pada konsentrasi rendah. Mekanisme kerjanya mencakup gangguan struktur peptidoglikan, kerusakan membran sel, lisis, serta penghambatan pembentukan *biofilm*.

Antioksidan

Metode pengukuran serapan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) digunakan untuk pengujian antioksidan. Metode ini dianggap sederhana dan cepat, serta terpercaya dalam mengevaluasi kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas (Suen dan Antari, 2020). Prinsip metode ini didasarkan pada sifat radikal DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga menunjukkan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Ketika senyawa antioksidan bereaksi dengan DPPH melalui mekanisme penangkapan radikal bebas, elektron yang tidak berpasangan tersebut menjadi berpasangan, ditandai dengan berkurangnya intensitas absorbansi. Perubahan ini juga terlihat secara visual, di mana larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat berubah menjadi kuning pucat, seiring dengan terbentuknya bentuk tereduksi, yaitu DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Hasti dan Makbul, 2022). Instrumen ELISA reader mampu menganalisis beberapa sampel secara bersamaan dengan waktu yang lebih singkat serta kebutuhan volume sampel yang lebih sedikit, sehingga meningkatkan efisiensi pengukuran. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan perbedaan kemampuan penangkap radikal dari tiap isolat jamur endofit. Nilai IC₅₀ yang menggambarkan kekuatan aktivitas antioksidan masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Antioksidan dari Isolat Jamur Endofit yang Diisolasi dari Spons Laut dengan Metode DPPH

Isolat Jamur	Garam pada Media	IC ₅₀ ± SD (µg/mL)	Kategori*
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Dengan garam	38,68±0,23	Sangat kuat
	Tanpa garam	75,96±2,01	Kuat
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	Dengan garam	35,67±0,39	Sangat kuat
	Tanpa garam	52,25±1,82	Kuat
Asam askorbat**		6,79±0,10	Sangat kuat

*Kategori didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Endra dan Ricka (2021).

**Asam askorbat digunakan sebagai senyawa acuan dalam uji antioksidan.

Aktivitas antioksidan ditunjukkan oleh kemampuan senyawa dalam ekstrak untuk mendonorkan proton, sehingga mampu menetralkan radikal DPPH yang terefleksikan melalui penurunan nilai absorbansi. Aktivitas antioksidan yang terdapat pada isolat jamur endofit *T. pinophilus* dan *T. purpureogenus* menunjukkan bahwa kedua isolat mampu mereduksi radikal bebas DPPH, dengan potensi yang lebih kuat pada kondisi media dengan garam pada setiap spesies. Pada *T. purpureogenus*, hasil skrining fitokimia yang ditunjukkan pada Tabel 4 memperlihatkan keberadaan flavonoid dan triterpenoid, dua golongan metabolit sekunder yang dikenal memiliki kemampuan menangkap radikal melalui mekanisme penyumbangan atom hidrogen. Widiarsiani *et al.*, (2024) melaporkan bahwa flavonoid, salah satu metabolit sekunder yang tergolong senyawa fenol, memiliki kerangka cincin benzena dengan gugus hidroksil (–OH) tersubstitusi. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan penangkal radikal bebas melalui tiga mekanisme utama, yaitu menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), menetralkan atau mereduksi ROS, serta mengatur dan menjaga sistem antioksidan. Sebuah senyawa yang dihasilkan dari jalur biosintesis fenilpropanoid adalah flavonoid. Struktural flavonoid terdiri dari dua cincin benzena yang masing-masing terdiri dari enam atom karbon yang dihubungkan oleh satu rantai propana. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tang *et al.*, (2020) dari enam endofit penghasil flavonoid yang diisolasi dari daun *Conyza blinii* H. Lé, dua diantaranya menunjukkan aktivitas penangkal radikal hidroksil yang kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,19 mg/mL, yang bahkan melampaui asam askorbat dengan nilai IC₅₀ 0,96 mg/mL. Hal tersebut mendukung hasil penelitian bahwa isolat jamur *T. purpureogenus* yang mengandung flavonoid termasuk kategori sangat kuat sebagai antioksidan. Pada penelitian Cai *et al.*, (2019) dilaporkan bahwa triterpenoid memiliki kemampuan kuat dalam menetralkan radikal hidroksil. Radikal hidroksil merupakan jenis radikal bebas yang sangat reaktif dan bersifat sangat

toksik. Dalam sistem biologis, radikal ini dapat bereaksi dengan berbagai molekul dan merusak sel. Pada penelitian tersebut penetralan radikal bebas meningkat dari 10% menjadi 90% ketika konsentrasi triterpenoid yang terdapat pada *Sanghuangporus sanghuang* berada pada kisaran 18,75–350 µg/mL. Kemampuan antioksidannya juga tercatat jauh lebih baik dibandingkan triterpenoid *Ganoderma lucidum*. Pada konsentrasi 0,375–3,000 mg/mL, triterpenoid *G. lucidum* hanya mampu meningkatkan penetralan anion oksigen dari 30% menjadi 90%; sedangkan pada kisaran 0,1875–3,000 mg/mL, kemampuan penetralan radikal hidroksil meningkat dari 10% menjadi 90%, dan penetralan radikal DPPH meningkat dari 10% menjadi 70%. Hal tersebut mendukung hasil penelitian bahwa isolat jamur *T. purpureogenus* yang mengandung triterpenoid termasuk kategori sangat kuat sebagai antioksidan.

Asam askorbat sebagai pembanding dalam pengujian antioksidan memiliki keunggulan karena sifatnya sebagai senyawa murni dengan nilai IC₅₀ yang relatif kecil, sehingga menunjukkan potensi antioksidan yang tinggi. Secara mekanistik, vitamin C mudah teroksidasi oleh radikal bebas karena memiliki ikatan rangkap dengan dua gugus -OH yang terikat pada ikatan tersebut. Gugus hidroksil ini berperan dalam mendonorkan atom hidrogen sehingga mampu menetralkan radikal bebas. Selain itu, vitamin C dapat menangkap radikal bebas baik dengan maupun tanpa katalisator enzimatis, serta bereaksi lebih cepat terhadap spesies oksigen reaktif dibandingkan komponen larutan lainnya (Winarsi, 2007). Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa kedua isolat jamur endofit memiliki kemampuan mereduksi radikal bebas yang cukup kuat, terutama ketika ditumbuhkan pada media dengan garam. Kondisi dengan garam tampak meningkatkan produksi metabolit antioksidan pada *T. pinophilus* dan *T. purpureogenus*, yang tercermin dari nilai IC₅₀ yang lebih rendah dibandingkan media tanpa garam. Namun, jika dibandingkan dengan asam askorbat sebagai kontrol positif, aktivitas antioksidan kedua

isolat masih lebih rendah. Perbedaan ini wajar mengingat asam askorbat merupakan antioksidan murni dengan efisiensi tinggi, sedangkan ekstrak jamur merupakan campuran berbagai senyawa dengan potensi antioksidan yang bervariasi. Hasil IC_{50} isolat yang berada pada kategori kuat hingga sangat kuat menunjukkan bahwa jamur endofit dari spons laut memiliki potensi signifikan sebagai sumber antioksidan alami, terutama pada kondisi salinitas yang mampu menginduksi produksi metabolit aktif.

Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas dapat menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT digunakan sebagai uji awal untuk menilai potensi antikanker sekaligus sebagai metode alternatif yang sederhana dan ekonomis dalam pengujian toksisitas (Hamburger dan Hostettmann, 1991). Metode ini masih dianggap relevan dalam mengevaluasi senyawa bersifat sitotoksik karena menunjukkan korelasi yang searah dengan hasil uji sitotoksitas pada sel kanker (Niksic *et al.*, 2021). Larva *A. salina* digunakan sebagai organisme uji karena mudah dikultur, berbiaya rendah, memiliki siklus hidup yang singkat, serta menunjukkan sensitivitas tinggi terhadap senyawa uji. Tingkat sensitivitas larva yang tinggi disebabkan oleh membran kulitnya yang sangat tipis, sehingga zat-zat dari lingkungan dapat dengan mudah berdifusi dan memengaruhi proses metabolisme di dalam tubuhnya (Meyer *et al.*, 1982). Pada pengujian BSLT, larva *A. salina* yang digunakan berumur 48 jam, karena pada fase ini terjadi pembelahan sel yang berlangsung cepat dan memiliki karakteristik yang menyerupai proliferasi sel kanker (Safriani *et al.*, 2023). Keakuratan hasil pengujian toksisitas dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu selama inkubasi telur dan air laut, umur larva yang

digunakan, serta tingkat salinitas air laut (Olmedo *et al.*, 2024).

Hasil uji menunjukkan beban konsentrasi ekstrak dalam media dapat membunuh larva *A. salina* secara berturut-turut hanya pada konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 $\mu\text{g/mL}$. Nilai LC_{50} pada ekstrak spons laut dipaparkan pada Tabel 7. Variasi konsentrasi ekstrak spons laut yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan pengaruh terhadap tingkat kematian larva *A. salina*. Setiap perlakuan menggunakan 10 ekor larva dan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, sehingga total larva *A. salina* yang digunakan berjumlah 60 ekor. Larva yang dipilih berumur 48 jam, karena pada fase ini struktur tubuh larva telah berkembang lebih sempurna dibandingkan saat baru menetas. Proses pengamatan, pertumbuhan, dan perkembangan larva hingga pelaksanaan uji toksisitas ekstrak dilakukan dengan dukungan pencahayaan yang memadai.

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak spons laut menunjukkan sifat toksik yang dibuktikan melalui nilai LC_{50} dengan yang paling kuat ditunjukkan oleh *T. purpureogenus* dengan tambahan garam pada media. Toksisitas ini diduga berkaitan dengan adanya senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, dan triterpenoid yang pada kadar tertentu dapat menimbulkan efek toksik akut hingga mengakibatkan kematian larva *A. salina*. Mekanisme kematian larva tersebut berhubungan dengan aktivitas senyawa-senyawa tersebut yang mampu menghambat kemampuan makan larva. Mekanisme kerjanya adalah sebagai racun perut, sehingga sistem pencernaan larva terganggu ketika senyawa masuk ke tubuhnya. Selain itu, senyawa ini juga mampu menghambat reseptor perasa di area mulut larva, menyebabkan larva tidak mampu merespons rangsangan rasa dan gagal mengenali makanannya, yang pada akhirnya berujung pada kematian akibat kelaparan (Sondakh *et al.*, 2017).

Tabel 7. Hasil Uji Toksisitas dari Isolat Jamur Endofit yang Diisolasi dari Spons Laut dengan Metode BSLT

Isolat Jamur	Garam pada Media	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SD	Klasifikasi Toksisitas
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Dengan garam	103,03 $\pm$ 4,91	Toksisitas sedang
	Tanpa garam	152,66 $\pm$ 12,54	Toksisitas sedang
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	Dengan garam	87,03 $\pm$ 8,97	Toksisitas tinggi
	Tanpa garam	109,14 $\pm$ 10,13	Toksisitas sedang

Keterangan: LC_{50} >1000 $\mu\text{g/mL}$ (Tidak toksik), LC_{50} 500-1000 $\mu\text{g/mL}$ (Toksisitas rendah), LC_{50} 100-500 $\mu\text{g/mL}$ (Toksisitas sedang), LC_{50} 0-100 $\mu\text{g/mL}$ (Toksisitas tinggi) (Hamidi *et al.*, 2014).

SIMPULAN

Dua isolat jamur endofit yang diperoleh dari spons di Pantai Amed berhasil diidentifikasi sebagai *Talaromyces pinophilus* dan *Talaromyces purpureogenus* melalui analisis sekuens daerah ITS dengan tingkat kesamaan lebih dari 99%. Uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol pada kedua isolat, serta triterpenoid pada *T. purpureogenus* di media dengan tambahan garam. Aktivitas antimikroba yang diperoleh dikategorikan lemah, namun uji antioksidan menunjukkan potensi sangat kuat dengan nilai IC₅₀ di bawah 50 µg/mL pada beberapa kondisi fermentasi. Uji toksisitas menggunakan metode BSLT menunjukkan aktivitas toksik sedang hingga tinggi. Secara keseluruhan, jamur endofit laut dari spons Pantai Amed berpotensi dikembangkan sebagai sumber metabolit sekunder alami dengan aktivitas antioksidan yang kuat dan kemungkinan efek toksisitas untuk penelitian lebih lanjut di bidang pengembangan obat berbasis bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Beepat, S. S., Davy, S. K., Woods, L., and Bell, J. J. 2020. Short-term Responses of Tropical Lagoon Sponges to Elevated Temperature and Nitrate. *Marine Environmental Research*, 157(1): 104922.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104922>
- Cai, C., Ma, J., Han, C., Jin, Y., Zhao, G., and He, X. 2019. Extraction and Antioxidant Activity of Total Triterpenoids in The Mycelium of A Medicinal Fungus. *Scientific Reports*, 9(1): 1–10.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-43886-0>
- Damanis, F. V., Wewengkang, D. S., dan Antasionasti, I. 2019. Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa carteri* yang Dikoleksi Dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung Cavieta. *Jurnal PHARMACON*, 8: 671–678.
<https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29390>
- Deponda, R. A., Fitriana, F., Nuryanti, S., and Herwin, H. 2019. Isolation of Endophytic Fungi from the Skin of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) as an Antibacterial Using the TLC Method - Bioautography. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(02): 147–153.
<https://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/as-syifaa/article/view/583/pdf>
- Dwijayanti. 2024. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Isolat Ra1 Asal Tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr Dari Fermentasi Medium PDB Dan CDB. *Jurnal Medika Hutama*, 05(04): 4020–4028.
<https://jurnalmedikahutama.com/index.php/JMH/article/view/698>
- Eltivitasari, A., Wahyuono, S., dan Astuti, P. 2021. Jamur Endofit *Arthrimum sp.* Sumber Potensial Senyawa Obat Review. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 8(3): 228.
<https://doi.org/10.25077/jsfk.8.3.228-241.2021>
- Endra, P., dan Ricka, I. 2021. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Air Ranting Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) Dengan Perendaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2): 135–144.
<https://doi.org/10.31596/cjp.v5i2.143>
- Haedar, H., Sadarun, B., dan Palupi, R. D. 2016. Potensi Keanekaragaman Jenis dan Sebaran Spons di Perairan Pulau Saponda Laut Kabupaten Konawe. *Jurnal Sapa Laut (Jurnal Ilmu Kelautan)*, 1(1): 1–9.
<http://ojs.uho.ac.id/index.php/jsl>
- Hamburger, M., and Hostettmann, K. 1991. 7 Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, 30(12): 3864–3874.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83425-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83425-K)
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., dan Romadhon, R. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2): 11–21.
<https://doi.org/10.14710/jitpi.2019.6742>
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., and Kadifkova Panovska, T. 2014. Toxicological Evaluation of The Plant Products Using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(1): 9–18.
<https://doi.org/10.33320/MACED.PHARM.BU.LL.2014.60.01.002>
- Hasanah, U., Purnawati, A., dan Nirwanto, H. 2023. Akselerasi Hasil Penelitian dan Optimalisasi Tata Ruang Agraria untuk Mewujudkan Pertanian Berkelanjutan” Jamur Endofit *Aspergillus sp.* sebagai Agen Pengendali Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Tomat. *Prosiding*, 7(1): 1108–1113.
<https://proceeding.uns.ac.id/index.php/semnasfp>
- Hasti, S., dan Makbul, R. 2022. Aktivitas Antiradikal DPPH Ekstrak Etanol Kulit Batang (Parkinson ex F.A.Zom) Fosberg. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 11(2): 23–29.
<https://doi.org/10.51887/jpfi.v11i2.1739>
- Hidayah, N., Sumandiarsa, I. K., dan Alqadiri, W. M. 2024. Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antifungal Ekstrak *Padina sp.*

- Menggunakan *Ultrasound Assisted Extraction* Terhadap *Aspergillus flavus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(4): 297–308.
<https://doi.org/10.17844/jphpi.v27i4.44634>
- Hofstetter, V., Buyck, B., Eyssartier, G., Schnee, S., and Gindro, K. 2019. The Unbearable Lightness of Sequenced-Based Identification. *Fungal Diversity*, 1(1): 1-10.
<https://doi.org/10.1007/s13225-019-00428-3>
- Identification and Pathogenicity of Endophytic Fungi From Corn Ears. *Scientific Reports*, 14(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-68428-1>
- Kaliaperumal, K., Salendra, L., Liu, Y., Ju, Z., Sahu, S. K., and Elumalai, S. 2023. Isolation of Anticancer Bioactive Secondary Metabolites From The Sponge-Derived Endophytic Fungi *Penicillium* sp. and In-Silico. *Frontiers in Microbiology*, 14(1): 1-13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216928>
- Kumar, V., and Awanish, S. 2023. Secondary Metabolites From Endophytic Fungi : Production, Methods Of Analysis, and Diverse Pharmaceutical Potential. *Symbiosis*, 90: 111-125.
<https://doi.org/10.1007/s13199-023-00925-9>
- Laksmi, T. F., Budjianto, S., Irma Rahmawati, S., Harmoko, R., Nurul Izzati, F., Bachri, S., Inka Nelandi, S., Yusrum, A., dan Ilman, M. 2022. Profil Aktivitas Antibakteri Isolat Kapang Endofit Mangrove dari Kabupaten Berau, Indonesia. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 9(1): 86–99.
<http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Lei, L. R., Gong, L. Q., Jin, M. Y., Wang, R., Liu, R., Gao, J., Liu, M. D., Huang, L., Wang, G. Z., Wang, D., and Deng, Y. 2022. Research Advances in The Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites From *Talaromyces*. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1–23.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.984801>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(1): 31–34.
<https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Nasrul, P. I., dan Chatr, M. 2024. Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antifungi. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 8: 15832–15844.
<https://doi.org/10.31004/jptam.v8i1.14626>
- Niksic, H., Becic, F., and Koric, E. 2021. Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. *Sci Rep*, 11: 13178.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-92679-x>
- Nestor, B.J., Bayer, P.E., and Fernandez, C.G.T. 2023. Approaches to increase the validity of gene family identification using manual homology search tools. *Genetica*, 151: 325–338.
<https://doi.org/10.1007/s10709-023-00196-8>
- Nurazizah, M. A. 2024. Pengaruh Penanganan Kapang Endofit Laut terhadap Metabolit Sekunder yang Dihasilkan.
<https://www.researchgate.net/publication/386384234>
- Olmedo D., Vasquez Y., Morán J., De León E., Caballero-George C., and Solís P. 2024. Understanding the Artemia Salina (Brine Shrimp) Test: Pharmacological Significance and Global Impact. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 27(4): 545-554.
<https://doi.org/10.2174/1386207326666230703095928>
- Palungan, I., Bara, R. A., Mangindaan, R. E. P., Kemer, K., dan Wullur, S. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons *Stylissa carteri* dari Teluk Manado ,Sulawesi Utara (Antibacterial Activity of *Stylissa carteri* Sponge Extract from Manado Bay ,North Sulawesi). *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 10(1): 9-18.
<https://doi.org/10.35800/jip.v10i1.36020>
- Permatasari, A., Batubara, I., dan Nursid, M. 2020. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi terhadap Rendemen, Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Padina australis*. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera : A Scientific Journal*, 37(2): 78–84.
<https://doi.org/10.20884/1.mib.2020.37.2.1192>
- Pinheiro, E. A. A., Pina, J. R. S., Feitosa, A. O., Carvalho, J. M., Borges, F. C., Marinho, P. S. B., and Marinho, A. M. R. 2017. Bioprospecting of Antimicrobial Activity of Extracts of Endophytic Fungi From *Bauhinia guianensis*. *Revista Argentina de Microbiologia*, 49(1): 3-6.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.005>
- Putra, I. P. Y. A., Ariantari, N. P., Wibowo, J. T., Putu, N., and Leliqia, E. 2025. *Phyllospongia foliascens*-Derived Fungi : Molecular Identification , Antimicrobial Activity and Secondary Metabolite Profile of Their Methanolic Extracts. *BIO Web of Conferences*, 176.
<https://doi.org/10.1051/bioconf/202517602003>
- Ramadhani, M. A., Nadifah, S. D., Putri, N. A., dan Sulastri, S. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri

- Berbagai Ekstrak Tanaman Herbal Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 4(1): 65–76.
<https://doi.org/10.14710/genres.v4i1.22681>
- Safriani, L., Nasution, M. P., Nasution, H. M., dan Rahayu, Y. P. 2023. Pengaruh metode ekstraksi terhadap efek sitotoksitas daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) pada larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality test. *FARMASAINKES: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 3(1): 87-101.
<https://doi.org/10.32696/farmasainkes.v3i1.2381>
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*, 1(3): 166-174.
<https://www.researchgate.net/publication/322592818>
- Sibero, M. T., Igarashi, Y., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Trianto, A., Zilda, D. S., and Sabdono, A. 2019. Sponge-Associated Fungi from A Mangrove Habitat in Indonesia: Species Composition, Antimicrobial Activity, Enzyme Screening and Bioactive Profiling. *International Aquatic Research*, 11(2): 173–186. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0227-8>
- Sondakh, R. M., Posangi, J., dan Wowor, P. M. 2017. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Spons Laut (*Callyspongia aerizusa*) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal E-Biomedik*, 5(2): 1–3.
<https://doi.org/10.35790/ebm.v5i2.18312>
- Subari, A., Razak, A., and Sumarmin, R. 2021. Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1): 89–94.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Suena, N. M. D. S., dan Antari, N. P. U. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*Coffea canephora*) Hijau Pupuan Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(2): 111–117.
<https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i2.1106>
- Tang, Z., Wang, Y., Yang, J., Xiao, Y., Cai, Y., Wan, Y., Chen, H., Yao, H., Shan, Z., Li, C., and Wang, G. 2020. Isolation and Identification of Flavonoid-Producing Endophytic Fungi From Medicinal Plant *Conyza blinii* H.Lév That Exhibit Higher Antioxidant and Antibacterial Activities. *PeerJ*, 15(8): 1-23.
<https://doi.org/10.7717/peerj.8978>
- Terna, P. T., Mohamed Nor, N. M. I., Azuddin, N. F., and Zakaria, L. 2024. *Molecular of Food Microbiology*, 347: 109171.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109171>
- Usman, W. F., Handayani, D., dan Rustini, R. 2025. Aktivitas Antimikroba Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Metanol Jamur Endofit (*Trichoderma harzianum* NT3) Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, MRSA, dan *Candida albicans* Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Higea*, 17(1): 28-37.
<https://doi.org/10.52689/higea.v17i1.665>
- Wardani, M. T., Kusdiyantini, E., & Budiharjo, A. 2017. Identifikasi Isolat *Monascus* sp. Hasil Isolasi Angkak Berdasarkan Gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dan Pengukuran Kandungan Pigmen. *Jurnal Biologi*, 6(2): 34–40.
<https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19533>
- Westphal, K. R., Heidelberg, S., Zeuner, E. J., Riisgaard-Jensen, M., Nielsen, M. E., Vestergaard, S. Z., Bekker, N. S., Skovmark, J., Olesen, C. K., Thomsen, K. H., Niebling, S. K., Sørensen, J. L., and Sondergaard, T. E. 2021. The Effects of Different Potato Dextrose Agar Media on Secondary Metabolite Production in *Fusarium*. *International Journal*
- Widiasriani, I, A, P., Udayani, N. N. W., Putri Triansyah, G. A., Mahita Kumari Dewi, N. P. E., Eva Wulandari, N. L. W., dan Sri Prabandari, A. A. S. 2024. Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6(2): 188–197.
- Winarsi, H. 2007, *Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasi dalam kesehatan*. <https://www.researchgate.net/publication/323104647>
- Wulandari, N. M. W., Dwijayanti, N. K., Putri, N. P. A. E., Putra, I. P. Y. A., Leliqia, N. P. E., Wibowo, J. T., Dwija, I. B. N. P., and Ariantari, N. P. 2025. Bioactivities and Molecular Identification from Marine Sediment-Derived Fungi Isolated from Amed and Tulamben Beaches. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 11(1): 74–85.
<https://doi.org/10.36733/medicamento.v11i1.10745>
- Zakaria, L., and Aziz, W. 2018. Molecular Identification of Endophytic Fungi from Banana Leaves. *SHORT COMMUNICATION*, 29(2): 201–211.
<https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.2.14>