

Antioksidan Ekstrak Kapang Endofit *Phomopsis* spp. dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya*)

Antioxidants in Endophytic Fungi Phomopsis spp. Extracts from Cinchona Plant (Cinchona calisaya)

Nani Radiastuti¹, Firdaus Ramadhan^{2*}, Yusraini Dian Inayati Siregar³

¹ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah

² Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi ISTN Jakarta

³ Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah

*E_mail: firdausramadhan213@gmail.com

Diterima: 25 Maret 2021

Direvisi: 6 Mei 2021

Disetujui: 3 Agustus 2021

ABSTRACT

Phomopsis spp. is one of the endophytic fungi that was isolated from cinchona plant (*Cinchona calisaya*). Endophytic fungi ability to produce bioactive compounds similar to the host, as a solution to get bioactive compounds without doing a lot of exploitation in the quinine plant. This study aimed to determine the highest antioxidant activity (IC_{50}) and known compounds acting as antioxidants in endophytic fungi extract *Phomopsis* spp. The extraction process was done by the maceration method by organic solvent ethyl acetate. The measured parameters IC_{50} and analysis of bioactive compound in extracts of endophytic fungi *Phomopsis* spp. The IC_{50} test used 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) method with UV-Vis spectrophotometry (λ 517 nm) and identification bioactive compound with Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). Based on the results of the DPPH test extract of *Phomopsis* spp. M70 had the highest antioxidant activity with IC_{50} 1283.95 ppm. Results of GC-MS showed hexadecanoic acid, octadecanoic acid 2-(2-hydroxyethyl) ethyl ester, benzene ethanol, 4-hydroxy-, 9-octadecanoic acid, hexadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester and octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester compounds which served as antioxidants in the extract of *Phomopsis* spp. M70. Extract of *Phomopsis* spp. M70 had the highest IC_{50} value but its antioxidant ability was classified as inactive.

Keywords: antioxidant, cinchona plants, endophytic fungi, *Phomopsis* spp.

ABSTRAK

Phomopsis spp. merupakan salah satu jamur endofit yang diisolasi dari tanaman kina (*Cinchona calisaya*). Kemampuan kapang endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang mirip dengan inang, sebagai solusi mendapatkan senyawa bioaktif tanpa banyak melakukan eksploitasi pada tanaman kina. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC_{50}) tertinggi dan mengetahui senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam ekstrak jamur endofit *Phomopsis* spp. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etil asetat. Parameter yang diukur IC_{50} dan analisis senyawa bioaktif dalam ekstrak jamur endofit *Phomopsis* spp. Uji IC_{50} menggunakan metode 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) dengan spektrofotometer UV-Vis (λ 517 nm) dan identifikasi senyawa bioaktif dengan Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). Berdasarkan hasil uji DPPH ekstrak *Phomopsis* sp. M70 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC_{50} 1283,95 ppm. Hasil GC-MS menunjukkan asam heksadekanoat, asam oktadekanoat 2- (2-hidroksietoksi) etil ester, benzenaetanol, 4-hidroksi-, asam 9-oktadekanoat, asam heksadekanoat 2-hidroksi-1- (hidroksi metil) etil ester dan asam oktadekanoat, 2 Senyawa -hidroksi-1- (hidroksimetil) etil ester yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak *Phomopsis* spp. M70. Ekstrak *Phomopsis* spp. M70 memiliki IC_{50} tertinggi namun kemampuan antioksidannya tergolong tidak aktif

Kata kunci: antioksidan, kapang endofit, *Phomopsis* spp., tanaman kina

Pendahuluan

Tanaman kina (*Cinchona calisaya*) merupakan tanaman yang telah dikenal sebagai tanaman obat. Senyawa alkaloid yang terkandung di dalamnya telah dilaporkan memiliki aktivitas antimalaria sehingga dijadikan bahan baku obat.¹ Selain aktivitas antimalaria, tanaman kina juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan pada penelitian sebelumnya.² Pemanfaatan kandungan senyawa bioaktif pada tanaman kina menyebabkan dibutuhkan populasi tanaman dalam jumlah yang besar. Akibat pemanfaatan tersebut dalam skala industri yang besar dapat menurunkan populasi tanaman kina. Salah satu solusi untuk produksi bioaktif dari tanaman kina tanpa mengakibatkan penurunan populasinya adalah dengan pemanfaatan kapang endofit.³

Kapang endofit adalah kapang yang hidup di dalam jaringan tanaman baik pada bagian akar, daun, batang, buah ataupun ranting dengan membentuk koloni tanpa membahayakan inangnya dan tersebar hampir di seluruh tanaman vaskuler.⁴ Kapang endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang memiliki karakter mirip atau sama dengan inangnya seperti alkaloid, terpenoid, fenol, flavonoid, quinon, steroid dan lain sebagainya.⁵ Hal tersebut disebabkan adanya alterasi gen antara tumbuhan inang dan kapang endofit.⁶

Phomopsis merupakan genus kapang endofit yang telah banyak diisolasi dari berbagai tanaman vaskuler.⁷⁻¹⁰ Pada tanaman kina terdapat 638 galur kapang endofit yang berhasil diisolasi dari berbagai organ tanaman kina.¹¹ Beberapa di antaranya telah diketahui dari genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Colletotrichum* dan *Phomopsis*. Genus *Aspergillus* dan *Fusarium* dilaporkan memiliki kemampuan menghasilkan kuinidina.³ Genus *Colletotrichum* hasil isolasi dari tanaman kina telah dilaporkan memiliki kemampuan produksi kuinina dan memiliki aktivitas antibakteri.^{12,13} Kapang *Phomopsis* spp. dilaporkan memiliki

kemampuan menghasilkan senyawa alkaloid,¹⁴ antibakteri dengan zona hambat 6–28 mm dan kuinina yang berkisar 1,66–45,90 ppm.¹⁵

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan kapang *Phomopsis* spp. dari tanaman kina belum banyak dilaporkan. Kurangnya informasi mengenai aktivitas antioksidan pada kapang endofit *Phomopsis* spp. tanaman kina disebabkan sebagian besar penelitian senyawa bioaktif kapang tersebut difokuskan pada senyawa alkaloid. Melihat potensi kapang endofit *Phomopsis* spp. sebagai penghasil bioaktif, maka perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak mana yang memiliki antioksidan (IC₅₀) tertinggi dan senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak kapang endofit *Phomopsis* spp. dari tanaman kina.

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Laboratorium Terpadu (PLT), Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah. Bahan yang digunakan adalah isolat kapang *Phomopsis* spp. yang diisolasi dari Pusat Perkebunan Teh dan Kina, Gambung, Ciwidey, Bandung, Jawa Barat. Isolat telah diidentifikasi secara morfologi dan molekuler ITS rDNA pada penelitian sebelumnya.¹⁶

Sebanyak 11 isolat murni kapang endofit *Phomopsis* spp. dengan kode isolat M13, M15, M22, M24, M36, M39, M65, M70, M78, M89 dan M95 ditumbuhkan kembali pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) (®Merck) baru dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Isolat tersebut digunakan sebagai kultur stok untuk tahapan selanjutnya. Isolat kapang endofit dari medium PDA, kemudian melalui tahapan fermentasi cair menggunakan medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Merck) sebanyak 200 mL. Selanjutnya, medium tersebut disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

Miselium isolat kapang endofit diinokulasikan ke dalam PDB sebanyak 3 cuplikan dan diinkubasi pada suhu ruang

dengan metode statis selama 21 hari.¹⁷ Hasil fermentasi kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etil asetat (®Mallinckrodt) hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipisahkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* (®EYELA SB1000) 4000 rpm dengan 45°C hingga didapatkan ekstrak pekat.

Pengujian antioksidan digunakan larutan 1.1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (®Merck) 0,002%. Selanjutnya ekstrak dibuat menjadi larutan stok 10.000 ppm. Larutan stok tersebut diencerkan dengan variasi konsentrasi dari 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm dan 4000 ppm. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (®Perkin Elmer) pada λ 517 nm. Aktivitas antioksidan diukur dari penurunan absorbansi larutan DPPH akibat penambahan ekstrak hasil fermentasi. Aktivitas antioksidan yang dipaparkan dalam bentuk kurva. Presentasi inhibisi ekstrak kapang terhadap larutan DPPH dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ yang diperoleh diinterpretasikan dengan aktivitas antioksidan berdasarkan penelitian oleh Wulansari dkk,¹⁸ yaitu <50 ppm, sangat kuat; 50-100 ppm, kuat; 100-250 ppm, sedang; 250-500 ppm, lemah; dan >500 ppm, tidak aktif. Ekstrak kapang endofit yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (IC₅₀ terendah) dipilih untuk dilakukan analisis kandungan senyawa dengan GC-MS (®Shimadzu QP2010). Sampel sebanyak 1 µL diinjeksikan ke dalam GC-MS yang dioperasikan menggunakan kolom DB SMS Agilent 30 m, diameter 0,25 mm, dan ketebalan 0,25 µm. Temperatur kolom awal 50°C, temperatur akhir 250°C dengan kenaikan temperatur 5°C/menit hingga 250°C, gas pembawa helium bertekanan 53,6 kPa, total laju 14 mL/menit dan *split* rasio sebesar 10. Senyawa kimia yang diperoleh akan diidentifikasi dengan perangkat lunak

Wiley7 dan NIST147 *library* dengan kesamaan bobot molekul $\geq 85\%$.

Hasil

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ pada setiap ekstrak kapang endofit *Phomopsis* spp. memiliki nilai yang bervariasi yaitu, 1283,95–5073,75 ppm (Gambar 1). Ekstrak *Phomopsis* M70 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ 1283,95 ppm dan ekstrak *Phomopsis* M13 memiliki aktivitas antioksidan terendah dengan nilai IC₅₀ 5073,75 ppm. Nilai IC₅₀ ekstrak M70 dalam penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang tidak aktif berdasarkan penelitian oleh Wulansari dkk¹⁸ yaitu >500 ppm.

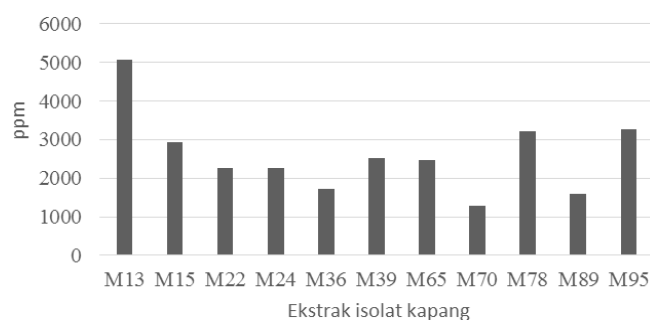
Analisis GC-MS

Hasil GC-MS melaporkan terdapat 6 dari 10 senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan yaitu, *benzeneethanol 4-hydroxy*, *hexadecanoic acid*, *9-octadecanoic acid*, *octadecanoic acid 2-(2-hydroxyethoxy) ethyl ester*, *hexadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxy methyl) ethyl ester*, dan *octadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester* di dalam ekstrak kapang endofit *Phomopsis* M70 (Tabel 1).

Pembahasan

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak M70 pada penelitian ini tergolong tidak aktif. Hal tersebut diduga ekstrak yang digunakan masih ekstrak kasar yang belum dimurnikan. Antioksidan merupakan senyawa yang berperan menghambat proses oksidasi sehingga mampu mengubah senyawa radikal yang bersifat reaktif menjadi non-reaktif.¹⁹ Ekstrak M70 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dalam penelitian ini diduga karena perbedaan kemampuan masing-masing pada isolat. Terdapat sejumlah isolat yang berpotensi memproduksi hanya satu jenis



Gambar 1. Nilai IC₅₀ ekstrak kapang endofit *Phomopsis spp.*

dan sebagian lagi memproduksi lebih dari satu jenis senyawa bioaktif.²⁰

Perbedaan jenis senyawa yang dihasilkan oleh setiap isolat akan mempengaruhi tinggi rendahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak. Lebih lanjut, Radiastuti dkk¹⁶ melaporkan ekstrak *Phomopsis* M13, M39, dan M70 merupakan penghasil senyawa kuinina tertinggi pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini, ekstrak *Phomopsis* M70 merupakan yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, yaitu 1283,95 ppm sedangkan M13 dan M39 yaitu 5073,75 dan 2534,57 ppm. Isolat kapang M70 diduga berpotensi memproduksi lebih dari satu senyawa bioaktif. Isolat tersebut berbeda dengan *Phomopsis* M13 dan M39 yang mampu menghasilkan senyawa kuinina tinggi tetapi rendah dalam senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak kapang endofit *Phomopsis* M70 lebih tinggi (IC₅₀ 1283,95 ppm) dibandingkan dengan penelitian-penelitian serupa, yang menggunakan kapang endofit *Phomopsis spp.* dengan IC₅₀ 2030±0,81 ppm,²¹ 2682±5.17 ppm²² dan 2031 ppm²³ dan lebih rendah dibandingkan penelitian Jayanthi *et al.*,²⁴ Nath *et al.*,²⁵ dan

Kandasamy *et al.*,²⁶ yaitu masing-masing sebesar 31,25 ppm, 100 ppm dan 600 ppm. Hal tersebut diduga karena adanya perbedaan penggunaan pelarut dan waktu fermentasi. Senyawa bioaktif tertentu seperti antioksidan hanya ditemukan pada organisme atau strain yang spesifik dan hanya diproduksi pada kondisi tertentu seperti nilai pH medium dan ketersediaan cahaya yang optimum.³

Analisis GC-MS

Senyawa *benzeneethanol* 4-*hydroxy-* merupakan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena tergolong kelompok fenolik. Ashwathanarayana & Naika²⁷ melaporkan bahwa ekstrak kulit batang dari tanaman obat *Olea dioica* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena mengandung senyawa fenol yang tinggi. Kandungan fenol yang tinggi dilaporkan memiliki keterkaitan dengan tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak kapang endofit *Phomopsis sp.* dan *Xylaria sp.* Huang *et al.*²⁸ melaporkan bahwa senyawa fenol berperan dalam kemampuan meredam radikal bebas dari kapang endofit tanaman *Nerium oleander*.

Tabel 1. Hasil identifikasi pada ekstrak kapang endofit *Phomopsis* M70

No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	% Area	Nama Senyawa	Kemiripan (%)*
1	10,160	2,19	<i>Succinic acid, monomethyl ester</i>	85
2	18,970	3,82	<i>Benzeneethanol, 4-hydroxy**</i>	90
3	30,811	13,47	<i>Hexadecanoic acid**</i>	92
4	34,036	2,29	<i>9-Octadecanoic acid**</i>	87
5	34,518	4,56	<i>Octadecanoic acid, 2-(2-hydroxyethoxy) ethyl ester**</i>	91
6	35,230	0,44	<i>Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-</i>	86
7	38,335	2,07	<i>Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxy methyl) ethyl ester**</i>	93
8	38,600	1,05	<i>Tricosane</i>	89
9	40,525	1,44	<i>n-Pentacosane</i>	92
10	41,710	1,38	<i>Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester**</i>	91

* kemiripan bobot molekul berdasarkan Wiley7 & NIST147 library

**memiliki aktivitas antioksidan

Senyawa fenolik memiliki mekanisme sebagai *proper antioxidant*, yaitu antioksidan yang menginaktivasi radikal bebas. Senyawa fenolik memiliki struktur khas yaitu terdapat satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik benzen.^{29,30} Senyawa metabolit sekunder yang mengandung fenol seperti asam fenolik, flavonoid, kuinina, dan kumarin telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan.³¹

Hexadecanoic acid merupakan senyawa yang memiliki persen area terbesar dalam ekstrak yaitu, 13,47%. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antoksidan karena mampu menjaga sel paru-paru tikus percobaan dari kerusakan akibat fibrosis dan senyawa oksigen reaktif lainnya.³² Aktivitas antikanker pada ekstrak tumbuhan *Ficus benghalensis* juga dilaporkan karena adanya senyawa tersebut.³³ Senyawa ester dari asam lemak juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan. *Hexadecanoic acid*, *9-octadecanoic acid*, dan *octadecanoic acid 2-(2-hydroxyethoxy) ethyl ester* dari ekstrak metanol daun *Cassia italica* memiliki aktivitas antioksidan.³⁴⁻³⁶ Kandungan asam lemak tak jenuh seperti *9-octadecanoic acid* dan *hexadecanoic*

acid ekstrak biji *Anona muricata* yang berperan sebagai antioksidan.³⁷

Kesimpulan

Ekstrak isolat kapang endofit *Phomopsis* M70 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 1283,95 ppm yang tergolong tidak aktif. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam ekstrak kapang endofit *Phomopsis* M70 adalah *hexadecanoic acid*, *octadecanoic acid 2-(2-hydroxyethoxy) ethyl ester*, *benzeneethanol*, *4-hydroxy-*, *9-octadecanoic acid*, *hexadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxy methyl) ethyl ester* dan *octadecanoic acid*, *2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester*.

Saran

Dilakukan pengujian total fenol pada ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Ucapan Terima Kasih

Kepada Pusat Perkebunan Teh dan Kina, Gambung, Ciwidey, Bandung, Jawa Barat atas perizinan pengambilan sampel dan Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) UIN Syarif Hidayatullah sehingga penelitian ini dapat dilakukan

Daftar Rujukan

1. Achan J, Talisuna AO, Erhart A, et al. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: Role in the treatment of malaria. *Malar J*. 2011;10(1):144. doi:10.1186/1475-2875-10-144
2. Al-Mustafa AH, Al-Thunibat OY. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan J Biol Sci*. 2008;11(3):351-358. doi:10.3923/pjbs.2008.351.358
3. Rahmawati I, Rahayu G, Ratnadewi D, Ratnadewi D. Effect of pH medium and light on quinidine production of Cinchona calisaya Wedd. endophytic fungi. *Turkish J Pharm Sci*. Published online 2020. doi:10.4274/tjps.galenos.2020.35761
4. Cruz JS, da Silva CA, Hamerski L. Natural products from endophytic fungi associated with rubiaceae species. *J Fungi*. 2020;6(3):1-26. doi:10.3390/jof6030128
5. Tan RX, Zou WX. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep*. 2001;18(4):448-459.
6. Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003;67(4):491-502. doi:10.2307/1592233
7. Gopinath K, Senthilkumar V, Arumugam A, Kumaresan S. Antimicrobial activity of extracellular metabolite of endophytic fungi *Phomopsis* spp. isolated from four different medicinal plant of India. *Int J Appl Biol Pharm Technol*. 2013;4(2):40-46.
8. Desale MG, Bodhankar MG. Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi Isolated From *Vitex negundo* Linn. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2013;2(12):389-395.
9. Premjanu N, Jayanthi C. Biodiversity of Endophytic Mycoflora from *Lannea coromandelica*. *J Pure Appl Microbiol*. 2014;8(2):733-737.
10. Kameshwari MNS, Mohana B, Saraswathi KJT. Isolation and Identification of Endophytic Fungi From *Urginea Indica*, a Medicinal Plant From Diverse Regions of South India. *Int J Latest Res Sci Technol*. 2015;4(1):75-80.
11. Hidayat I, Radiastuti N, Rahayu G, Okane I. Fungal Community of Culturable Fungal Endophytes Associated with Cinchona calisaya Collected from Gambung, West Java, Indonesia. *Makara J Sci*. 2019;23(3). doi:10.7454/mss.v23i3.11258
12. Zakiyah A, Radiastuti N, Sumarlin LO. Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd.). *AL-Kauniyah J Biol*. 2016;8(2):51-58. doi:10.15408/kauniyah.v8i2.2690
13. Radiastuti N, Mutea D, Sumarlin LO. Endophytic Colletotrichum spp. from Cinchona calisaya wedd. and it's potential quinine production as antibacterial and antimalaria. *AIP Conf Proc*. Published online 2017. doi:10.1063/1.4975960
14. Radiastuti N, Rahayu G, Okane I, Hidayat I, Achmadi SS. Alkaloid profile of endophytic Diaporthe spp. from Cinchona calisaya. *J Penelit Teh dan Kina*. 2015;18(1):81-93.
15. Pamungkas AP. KAPANG ENDOFIT *Phomopsis* spp. DARI TANAMAN KINA (*Cinchona calisaya* Wedd.) KAPANG ENDOFIT *Phomopsis* spp. DARI TANAMAN. [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta. 2014.
16. Radiastuti N. Diversity of Culturable Endophytic Fungi in Cinchona calisaya Wedd.: Molecular Phylogeny and Alkaloid Profile (Dissertation). *IPB, Bogor*. 2015.
17. Rukachaisirikul V, Sommart U, Phongpaichit S, Sakayaroj J, Kirtikara K. Metabolites from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. PSU-D15. *Phytochemistry*. 2008;69(3):783-787. doi:10.1016/j.phytochem.2007.09.006
18. Wulansari AN, Farmasi F, Padjadjaran U, Ungu C. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) sebagai Antioksidan alami: Review. *Farmaka*. 2018;16(2):419-429.
19. Yadav A, Kumari R, Yadav A, Mishra JP, Seweta S, Prabha S. Antioxidants and its functions in human body. *Res Environ Life Sci*. 2016;9(11):1328-1331.
20. Pratiwi ST. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga: Jakarta; 2008.
21. Bharathidasan R, Panneerselvam A. Antioxidant Activity of the Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Environment of Karankadu, Ramanathapuram District. *Int J Pharm Sci Res*. 2012;3(8):2866-2869.
22. Khiralla A, Mohamed I, Thomas J, et al. A pilot study of antioxidant potential of endophytic fungi from some Sudanese medicinal plants. *Asian Pac J Trop Med*. 2015;8(9):701-704. doi:10.1016/j.apjtm.2015.07.032
23. Pratiwi, Palupi KD, Fathoni A, Wulansari D, Ilyas M, Agusta A. Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of extracts of endophytic fungi isolated from Indonesian Zingiberaceous plants. *Nusant Biosci*. 2016;8(2):306-311. doi:10.13057/nusbiosci/n080228
24. Jayanthi G, Kamalraj S, Karthikeyan K, Muthumary J. Antimicrobial and

- antioxidant activity of the endophytic fungus *Phomopsis* sp . GJIM07 isolated from *Mesua ferrea*. *Int J Curr Sci*. 2011;1(January):85-90.
25. Nath A, Raghunatha P, Joshi SR. Diversity and biological activities of endophytic fungi of *Embblica officinalis*, an ethnomedicinal plant of India. *Mycobiology*. 2012;40(1):8-13. doi:10.5941/MYCO.2012.40.1.008
26. Kandasamy P, Manogaran S, Dhakshinamoorthy M, Kannan KP. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from *Bauhinia racemosa* Lam and *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn. *J Chem Pharm Res*. 2015;7(9):366-379. www.jocpr.com
27. Ashwathanarayana R, Naika R. Study on antioxidant and cytotoxic properties of *Olea dioica* Roxb. Crude extract and its pure compound collected from Western Ghats, Karnataka, India. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;10(2):356-367. doi:10.22159/ajpcr.2017.v10i2.15727
28. Huang W-Y, Cai Y-Z, Hyde KD, Corke H, Sun M. Endophytic fungi from *Nerium oleander* L (Apocynaceae): Main constituents and antioxidant activity. *World J Microbiol Biotechnol*. 2007;23(9):1253-1263. doi:10.1007/s11274-007-9357-z
29. Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*. 2018;5(3):93. doi:10.3390/medicines5030093
30. Kumar N, Goel N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Reports*. 2019;24. doi:10.1016/j.btre.2019.e00370
31. Gul MZ, Bhakshu LM, Ahmad F, Kondapi AK, Qureshi IA, Ghazi IA. Evaluation of *Abelmoschus moschatus* extracts for antioxidant, free radical scavenging, antimicrobial and antiproliferative activities using in vitro assays. *BMC Complement Altern Med*. 2011;11(1):64. doi:10.1186/1472-6882-11-64
32. Sharawy MH, El-Agamy DS, Shalaby AA, Ammar E-SM. Protective effects of methyl palmitate against silica-induced pulmonary fibrosis in rats. *Int Immunopharmacol*. 2013;16(2):191-198. doi:10.1016/j.intimp.2013.04.007
33. Verma VK, Sehgal N, Prakash O. Characterization and screening of bioactive compounds in the extract prepared from aerial roots of *Ficus benghalensis*. *Int J Pharm Sci Res*. 2015;6(12):5056-5069. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.6(12).5056-69
34. Uma M, Jothinayagi S, Kumaravel S, Kalaiselvi P. Determination of bioactive components of *Plectranthus amboinicus* Lour by GC-MS analysis. *New York Sci J*. 2011;4(8):66-69.
35. Sermakkani M, Thangapandian V. GC-MS analysis of *Cassia italica* leaf methanol extract. *Asian J Pharm Clin Res*. 2012;5(2):90-94.
36. Suryowati T, Rimbawan, Damanik R, Bintang M, Handharyani E. Identifikasi Komponen Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Dalam Tanaman Torbangun (*Coleus Amboinicus* Lour). *J Gizi Pangan*. 2015;10(3):217-224. doi:10.25182/jgp.2015.10.3.
37. Elagbar ZA, Naik RR, Shakya AK, Bardaweel SK. Fatty Acids Analysis, Antioxidant and Biological Activity of Fixed Oil of *Annona muricata* L. Seeds. *J Chem*. 2016; 2016 :1-6. doi:10.1155/2016/6948098