

Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Kapang Endofit Daun Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr.) secara *In Vitro*

Shirly Kumala^{1*}, Gabriel¹

ABSTRACT: *Bawang* dayak is a medicine plant which has been known potential as an antioxidant. To isolate potential secondary metabolites as antioxidant needs many bawang dayak plants to be extracted. Utilization of endophytic microbes as a source of secondary metabolites will make the production of natural medicine raw materials is more efficient and environmentally friendly. This research was aimed to investigate secondary metabolites of endophytic fungi from bawang dayak leaves as antioxidant substance. The method of this research was a direct seed inoculating technique on the surface of Potato Dextrose Agar directly. Identification of fungi morphology by using macroscopic (visual) and microscopic (slide culture) method. The results of endophytic isolation of this research got four fungi isolates. Isolate is fermented with shake method, then it is extracted with ethyl acetate. The extract is continued for Antioxidant activity assessment used DPPH method. Secondary metabolite ethyl acetate extract of four isolates had a potentiation as antioxidant. Highest antioxidant activity was showed by ethyl acetate extract from d.IEP.4.2 isolate has IC₅₀ at 82,9750 µg/mL which has been classified as strong antioxidant.

Keywords: *Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr., antioxidant, endophyte fungi.

ABSTRAK: Tanaman bawang dayak (*Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr.) merupakan tanaman obat yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antioksidan dapat diperoleh dengan membutuhkan banyak tanaman bawang Dayak. Oleh karena itu dicari alternative lain dengan memanfaatkan mikroba endofit sebagai sumber metabolit sekunder yang akan membuat produksi bahan baku obat alam lebih efisien dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji metabolit sekunder kapang endofit daun bawang dayak yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Metode penelitian ini menggunakan teknik inokulasi tanam langsung pada permukaan media pertumbuhan PDA (Potato Dextrose Agar). Identifikasi morfologi kapang dilakukan secara makroskopik (visual) dan mikroskopik (*slide culture*). Hasil isolasi kapang endofit ini didapatkan 4 isolat. Isolat difermentasi dengan metode goyang kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Ekstrak yang diperoleh, dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH, Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etil asetat metabolit sekunder dari keempat isolat berpotensi sebagai antioksidan Ekstrak Etil asetat dari isolat d.IEP.1.2 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ terendah yaitu 82,9750 µg/mL.

Kata kunci: *Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr., antioksidan, kapang endofit.

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Korespondensi :

Shirly Kumala

e-mail : fskumala@yahoo.com

PENDAHULUAN

Keanekaragaman flora (*biodiversity*) berarti keanekaragaman senyawa kimia (*chemodiversity*) yang kemungkinan terkandung di dalamnya. Hal ini memicu dilakukannya penelitian dan penelusuran senyawa kimia terutama metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan, seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi. Menurut WHO, tanaman obat menjadi sumber terbaik untuk memperoleh obat-obatan(1). Bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Bulbus tanaman bawang dayak dimanfaatkan sebagai obat kanker payudara oleh masyarakat lokal Kalimantan sedangkan daunnya bermanfaat sebagai pelancar air susu ibu (ASI). Selain itu tanaman ini juga dapat digunakan untuk mengatasi gangguan penyakit jantung, meningkatkan daya tahan tubuh, sebagai antiinflamasi, antitumor serta dapat menghentikan pendarahan(2). Dari hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan dengan uji DPPH, diketahui bahwa ekstrak etanol dari daun bawang Dayak memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 31,97437 $\mu\text{g/mL}$ (3).

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko berbagai penyakit kronis seperti bronkitis kronis, penyakit paru obstruktif menahun (PPOM), emfisema, asma, kanker, dan penyakit jantung koroner. Senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan senyawa fenolat terutama polifenol dan flavonoid diketahui berpotensi mengurangi risiko penyakit tersebut(4).

Pengembangan obat antioksidan yang berasal dari tumbuhan memerlukan bahan penelitian yang banyak, dimana pengujian aktivitas antioksidan dan suatu tanaman pada umumnya dilakukan dengan cara mengekstraksi sebagian atau seluruh bagian tanaman sehingga banyak menghabiskan populasi tanaman apalagi jika

tanaman yang diteliti adalah tanaman langka, maka akan semakin sedikit populasi tanaman tersebut.

Dalam bioteknologi, mikroba endofit ini sangat potensial sebagai penghasil senyawa-senyawa baru berkhasiat obat, metabolit sekunder, pengontrol biologi dan berbagai senyawa yang bermanfaat(4). Sifat mikroba endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder berkhasiat tersebut memungkinkan pengembangan mikroba menjadi sumber bahan baku obat yang berasal dari alam. Pemanfaatan mikroba endofit sebagai sumber metabolit sekunder akan membuat produksi bahan baku obat alam lebih efisien dan ramah lingkungan.

Mikroba dapat tumbuh lebih cepat dan membutuhkan ruang yang lebih kecil daripada pohon atau tanaman obat lainnya. Dengan memanfaatkan mikroba endofit sebagai sumber bahan baku obat alam, dapat menjadi peluang bagi industri farmasi untuk membuat pabrik bahan baku obat dengan memanfaatkan kekayaan alam dari bumi Indonesia(5).

Penelitian tentang kapang endofit dari tanaman ini belum banyak dilakukan oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan isolasi terhadap kapang endofit dari daun tanaman bawang dayak, Untuk mengetahui potensi antioksidan dari kapang endofit bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) maka dilakukan pengujian secara *in vitro* dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) untuk potensi antioksidan Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan bahwa kapang endofit daun tanaman bawang dayak dapat diisolasi dan metabolit sekunder yang diperoleh memiliki aktivitas antioksidan sebagai bahan dasar untuk obat-obatan.

METODE PENELITIAN

Bahan.

Sampel berupa daun tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) dari Balai

Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor, yang masih segar, alkohol 75%, NaOCl 5,3%, medium *Potato Dextrose Agar* (Difco), medium cair *Potato Dextrose Yeast* (PDY), aquadest steril, etil asetat, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Vitamin C, methanol pro analisis.

Alat.

Laminar Air Flow cabinet (Gelman Sciences PTY, LTD), autoklaf (Hirayama), inkubator (Mettler), Spektrofotometer UV-Vis, mikroskop, timbangan analitik (Sartorius), *rotavapor* (Heidolph), *waterbath* (Julabo TW20), *homogenizer*, *orbital shaker*, *sentrifuge* (Kokusan H-103n), alat-alat gelas seperti *beaker glass*, erlenmeyer, tabung reaksi, labu tentukur, gelas ukur, rak tabung, botol gelap, skalpel,

Metode Penelitian. Pengambilan Sampel.

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) yang masih segar, diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor, diidentifikasi dan di determinasi di Herbarium Bogoriense Bidang Botani-LIPI, Cibinong, Jawa Barat.

Isolasi Kapang Endofit.

Isolasi kapang endofit tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) dilakukan dengan metode tanam langsung, yaitu sebagai berikut:

- Daun dicuci bersih dan dibilas aquadest mengalir selama 10 menit, lalu ditiriskan.
- Daun dipotong menjadi bentuk persegi berukuran 0,5 x 0,5 cm.
- Permukaan daun disterilisasi bertingkat dengan menggunakan alkohol 75% selama 1-2 menit, dengan larutan NaOCl 5,3% selama 5 menit, kemudian dengan alkohol 75% selama 30 detik dan terakhir dibilas dengan aquadest steril.
- Kemudian untuk daun potong menjadi bentuk persegi pada bagian tengah daun (tulang daun) yang diletakkan diatas media

PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan posisi permukaan belahan menempel pada agar medium (telungkup).

- Kultur diinkubasi pada suhu ruang (270-300 °C) selama 5-7 hari.
- Kapang endofit yang tumbuh dimurnikan dengan dikulturkan kembali pada medium yang sama sampai diperoleh isolat tunggal (6,7).

Pengamatan Morfologi Kapang Endofit. Pengamatan secara Makroskopik.

Pengamatan dilakukan secara makroskopik untuk mengetahui bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni dan warna spesifik koloni dan warna sebalik koloni.

Pengamatan secara Mikroskopik.

Pembuatan preparat kapang menggunakan metode slide culture. Pembuatan preparat untuk pengamatan morfologi kapang dilakukan dengan cara meletakkan kapas basah yang ditutupi kertas saring di dasar cawan. Batang kayu steril berbentuk "U" diletakkan di atas kertas saring. Kaca objek diletakkan di atas batang kayu, kemudian cawan petri tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian pada kaca objek ditetesi medium PDA, lalu dengan menggunakan jarum ose diambil sedikit miselium kapang, kaca objek ditutup dengan menggunakan kaca penutup secara hati-hati. Cawan Petri ditutup kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3-5 hari, kemudian amati preparat dengan mikroskop(8).

Fermentasi Kapang Endofit.

Fermentasi kapang endofit tunggal dilakukan dalam medium cair PDY (*Potato Dextrose Yeast*) 50 mL dalam erlenmeyer 250 mL dengan metode goyang.

- Medium PDY yang akan digunakan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Dengan menggunakan sedotan bubble steril, isolat tunggal kapang endofit diambil 3-5 potong dengan diameter 1 cm dan dimasukkan

ke dalam medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*) 50 mL dalam erlenmeyer 250 mL.

- c. Selanjutnya diinkubasikan dengan penggojokan pada kecepatan 130 rpm pada suhu ruang (270-300 °C) selama 5 hari.
- d. Lalu dipindahkan ke dalam medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*) 200 mL dalam erlenmeyer 1 L dan diinkubasikan dengan penggojokan kecepatan 130 rpm pada suhu ruang (270-300 °C) selama 7 hari.
- e. Setelah itu di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit pada suhu ruang (270-300 °C). Supernatan yang diperoleh selanjutnya dilakukan ekstraksi(9).

Ekstraksi Hasil Fermentasi Kapang Endofit.

Supernatan yang diperoleh diekstraksi dengan pelarut yang bersifat semi polar. Supernatan diekstraksi dengan etil asetat sampai tersari sempurna. Fase etil asetat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapor, sehingga diperoleh ekstrak pekat. Kemudian ekstrak yang telah dipekatkan digunakan untuk uji aktivitas antioksidan.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan secara *In Vitro* dengan Metode DPPH(10).

Pembuatan larutan DPPH (0,4mM).

Ditimbang seksama sejumlah lebih kurang 15,6 mg DPPH (BM 394,32 g/mol), lalu dilarutkan dengan metanol pro analisis hingga 100,0 mL, kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

Pembuatan Larutan Blangko.

Dipipet 1,0 mL larutan DPPH (0,4 mM) ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5,0 mL, lalu ditambahkan metanol pro analisis sampai tanda dan dihomogenkan. Mulut tabung ditutup dengan aluminium foil.

Uji Aktivitas Antioksidan pada Masing-masing Ekstrak Kental.

Ditimbang lebih kurang 10 mg ekstrak kental, lalu dilarutkan dalam 10,0 mL metanol pro analisis

(1000 bpj), larutan ini merupakan larutan induk. Dipipet 25 µL, 50 µL, 100 µL, 200 µL, dan 400 µL larutan induk ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5,0 mL untuk mendapatkan konsentrasi sampel 5, 10, 20, 40, dan 80 bpj. Kedalam masing-masing tabung ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH dan ditambahkan dengan metanol pro analisis sampai tanda 5,0 mL. dihomogenkan dan mulut tabung ditutup dengan aluminium foil.

Pembuatan Larutan Vitamin C sebagai Kontrol Positif.

Vitamin C ditimbang lebih kurang 10 mg, lalu dilarutkan dalam 10,0 mL metanol pro analisis (1000 bpj), larutan ini merupakan larutan induk. Dipipet 10, 20, 30, 40, dan 50 µL larutan induk ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5,0 mL untuk mendapatkan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Masing-masing tabung ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH (0,4 mM) dan ditambahkan dengan metanol pro analisis sampai tanda 5,0 mL. Larutan dihomogenkan dan mulut tabung ditutup dengan aluminium foil.

Pengukuran Serapan.

Larutan uji dan kontrol positif dengan beberapa konsentrasi diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 515 nm menggunakan spektrofotometer cahaya tampak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman.

Tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) yang segar dan sehat diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense Bidang Botani-LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk memeriksa kebenaran dari sampel yang digunakan.

Hasil determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian menurut Herbarium Bogoriense-LIPI, Cibinong adalah :

a. Jenis : *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.


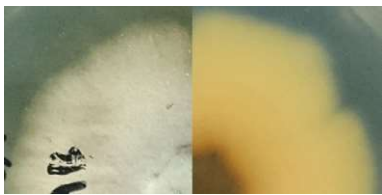


b. Suku : Iridaceae

Pengamatan Morfologi secara Makroskopik Isolat Kapang Endofit dari Daun Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.)

Hasil isolasi kapang endofit dari daun tanaman bawang dayak diperoleh 4 isolat tunggal kapang endofit. Proses isolasi kapang

endofit ini menggunakan metode sterilisasi permukaan dan teknik tanam langsung. Pada tahap awal didapatkan 6 isolat kapang. Setelah diamati secara makroskopik, ada beberapa koloni kapang yang mirip satu sama yang lain, sehingga isolat tersebut tidak dikulturkan kembali pada media pertumbuhan yang baru. Pada akhirnya didapatkan 4 isolat tunggal kapang endofit.

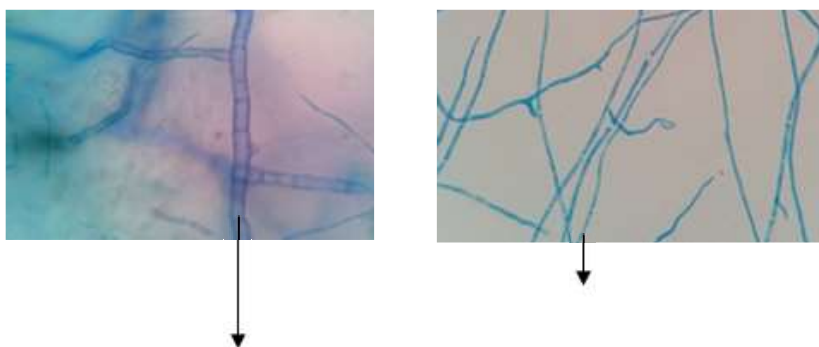
Tabel 1. Data isolat kapang endofit dari daun tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) secara makroskopik.

No	Gambar isolat (Tampak depan-belakang) dan Kode isolat	Diameter kapang hari ke-7 (cm)	Ciri-ciri morfologi makroskopik kapang	
			Tampak depan	Warna sebalik
1	 d.IEP 1.1 / isolat 1	9,0	Bentuk koloni bulat, warna koloni putih pucat, tepi koloni rata, permukaan koloni tebal	Putih pucat
2	 d.IEP 1.2 / isolat 2	6,0	Bentuk koloni bulat, warna koloni putih kuning, tepi koloni bergelombang, permukaan koloni seperti kapas tebal	Putih kekuningan
3	 d.IEP 2.4 / isolat 3	8,5	Bentuk koloni bulat, warna koloni putih, tepi koloni rata, permukaan koloni tebal	Putih
4	 d.IEP 4.2 / isolat 4	7,6	Bentuk koloni bulat, warna koloni putih, tepi koloni rata, permukaan koloni seperti kapas tebal	Putih kehijauan

Keterangan kode :

IEP : Isolat *Eleutherine palmifolia*

d : Daun



Pengamatan secara Mikroskopik Isolat Tunggal Kapang Endofit dari Daun Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Perbesaran 1000x.

Pengamatan secara mikroskopik ini menggunakan metode slide culture. Hasil slide culture diperoleh gambar secara mikroskopik pada perbesaran 1000x. Dari keempat isolat didapatkan bentuk morfologi hifa yang berbeda dari masing-masing isolat.

Hasil isolasi dari daun tanaman bawang dayak didapatkan 4 isolat tunggal. Pemisahan isolat tersebut berdasarkan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Secara makroskopik, karakteristik keempat isolat kapang berbeda berdasarkan pada diameter koloni, warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni, dan warna sebalik koloni. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan metode slide culture pada perbesaran 1000x untuk mengetahui bentuk hifa isolat kapang. Hasil dari penelitian, hifa pada keempat isolat ini memiliki septum namun memiliki bentuk yang berbeda. Dari ciri-ciri tersebut, dapat disimpulkan bahwa keempat isolat kapang tersebut merupakan isolat yang berbeda.

Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Kapang Endofit dari Daun Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) dengan Metode Peredaman Radikal DPPH.

Hasil pengukuran peredaman radikal DPPH pada ekstrak etil asetat metabolit sekunder

Tabel 2. Ringkasan hasil pengukuran peredaman radikal DPPH ekstrak etil asetat metabolit sekunder kapang endofit daun tanaman bawang dayak dan Vitamin C.

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)	Kekuatan antioksidan
Vitamin C	1,0220 ± 0,6024	Sangat Kuat
d.IEP 1.1	168,2509 ± 36,2969	Lemah
d.IEP 1.2	82,9750 ± 6,6176	Kuat
d.IEP 2.4	152,5154 ± 5,1094	Lemah
d.IEP 4.2	108,6375 ± 3,0709	Sedang

Nilai IC ₅₀	Kekuatan antioksidan
< 50 µg/mL	Sangat Kuat
50-100 µg/mL	Kuat
101-150 µg/mL	Sedang
> 150 µg/mL	Lemah

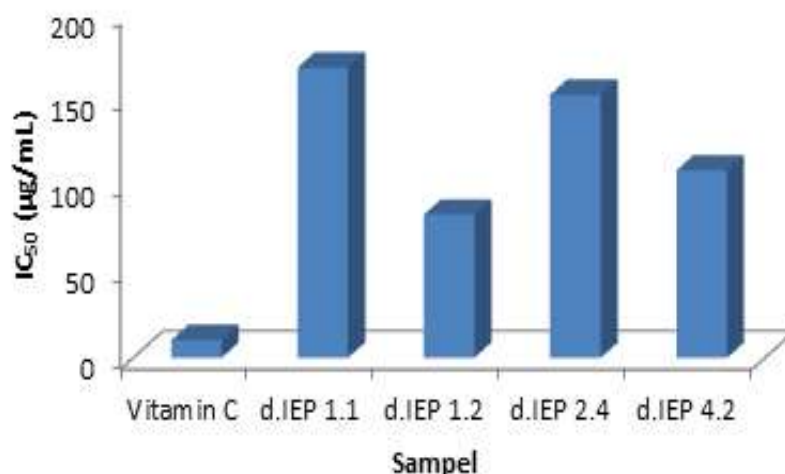
Isolat d.IEP 1.2 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari isolat lainnya dengan Nilai IC₅₀ yaitu 82,5247 µg/mL, dimana menurut Irda Fidrianny apabila nilai IC₅₀ 50-100 µg/mL dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan apabila nilai IC₅₀ 100-150 µg/mL ini menyatakan aktivitas antioksidan dengan kekuatan sedang yang ditunjukkan pada isolat d.IEP 4.2. Sedangkan untuk isolat lainnya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah karena memiliki nilai IC₅₀ lebih dari 150 µg/mL(13).

Pada penelitian ini didapatkan aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Evi Mintowati Kuntorini, dimana ekstrak etanol dari bulbus bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 25,3339 µg/mL(2), serta penelitian yang

dilakukan oleh Dina Pratiwi, didapatkan informasi bahwa ekstrak etanol dari daun bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi juga yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 31,97437 µg/mL(3). Hal ini dapat terjadi dikarenakan masih ada kemungkinan senyawa antioksidan yang terdapat pada fase polar. Sedangkan pada penelitian ini hanya diambil fase semi polar saja yaitu fraksi etil asetat. Sehingga aktivitas antioksidan yang diperoleh dari kapang endofit ini tidak sebesar penelitian sebelumnya yang langsung dari tanaman bawang dayak. Selain itu juga pada penelitian ini yang diambil dari hasil fermentasi kapang endofit yaitu supernatan yang merupakan hasil secara ekstraseluler. Biomassa yang merupakan hasil fermentasi dari kapang endofit secara intraseluler masih belum diteliti, sehingga ada kemungkinan bahwa pada biomassa memiliki aktivitas antioksidan juga. Apabila aktivitas antioksidan yang diperoleh dari biomassa dan supernatan hasil fermentasi kapang endofit digabungkan mungkin bisa setara dengan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yaitu hasil ekstraksi menggunakan tanaman bawang dayak secara langsung.

Berdasarkan penelitian Evi dan Dina, telah dilakukan penapisan fitokimia bahwa daun dan bulbus bawang dayak banyak mengandung flavonoid, tanin, senyawa fenolat golongan naftokuinon yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat(2,3). Ketiga senyawa inilah yang diperkirakan yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, dikarenakan ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa-senyawa fenol yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada cincin aromatik. Senyawa fenol inilah yang dapat menyumbangkan atom hidrogen sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil.

Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif untuk mengetahui potensi antioksidan. Dari hasil penelitian ini didapatkan juga nilai IC₅₀ dari vitamin C yaitu 1,0220 µg/mL yang dikategorikan dengan kekuatan antioksidan sangat aktif. Asam askorbat dapat mendonorkan



Gambar 3. Grafik nilai IC₅₀ dari pengukuran peredaman radikal DPPH pada sampel dan vitamin C.

atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil. Radikal bebas askorbil dibentuk kembali menjadi askorbat, tereduksi dengan cara menerima hidrogen lain dan mengalami oksidasi lebih lanjut membentuk dehidroaskorbat(14).

Potensi antioksidan yang dihasilkan oleh isolat kapang endofit daun tanaman bawang dayak masih lebih kecil jika dibandingkan dengan vitamin C. Hal ini dikarenakan vitamin c merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak etil asetat metabolit sekunder kapang endofit daun tanaman bawang dayak masih terdiri dari beberapa campuran senyawa. Namun isolat kapang endofit daun tanaman bawang dayak

telah terbukti menghasilkan metabolit sekunder yang dapat bekerja sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Hasil isolasi kapang endofit daun tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) yang telah diseleksi secara makroskopik dan mikroskopik didapatkan 4 isolat tunggal kapang endofit. Ekstrak etil asetat metabolit sekunder kapang endofit daun tanaman bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang kuat diperoleh pada isolat d.IEP 1.2 dengan nilai IC₅₀ sebesar 82,9750 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mierza V, Suryanto D, Nasution MP. Skrining fitokimia dan uji efek antibakteri ekstrak etanol umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr). Prosiding Seminar Nasional Biologi. 2011; h.340-53.
2. Kuntorini EM, Astuti MD. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bulbus bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr.). Jurnal Sains dan Terapan Kimia. 2010;4(1):15-22.
3. Pratiwi D, Wahdaningsih S. Uji aktivitas antioksidan daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.) dengan metode DPPH. Trad Med J. 2013;18(1):9-16.
4. Winarno EK. Produksi alkaloid oleh mikroba endofit yang diisolasi dari batang kina *Cinchona Ledgeriana* Moens dan *Cinchona*

- Pubescens Vahl (Rubiaceae). Jurnal Kimia Indonesia. 2006;1;(2);59-66.
5. Kumala S. Mikroba Endofit. Jakarta : ISFI penerbitan; 2014. h.7, 15-17, 22-23, 41-51, 61-65, 69-72, 98.
 6. Song Y. Isolation and cultivation of endophytic fungi. Proceeding of International Conference on Asian network on Microbial Researches. Feb '98 GMU Yogyakarta, Indonesia; 255-258.
 7. Petrini O, Sieber TN, Totil, Viret O. Ecology, metabolite production and substrate utilization in Endophytic fungi. Natural Toxin.1992; 185-96
 8. Ganjar I, Sjamsuridzal W, Oetari A. Mikologi Dasar dan Terapan Editor Roosherose IG. Sjamsuridzal W. Penervbit: Yayasan Obor Indonesia. Jakarta 2000; 1-7 dan 170-7.
 9. Stanbury PF, Whitaker A. Principles of fermentation Technology Pregamon Press. 1998; 1-9, 74-90.
 10. Pisoschi AM, Negulescu GP. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. Biochemistry & Analytical Biochemistry. 2011, 1:1
 11. Agustini NWS. Aktivitas antioksidan dan uji toksisitas hayati pigmen fikobiliprotein dari ekstrak Spirulina platensis. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS. 2002; h.535-43.
 12. Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004;26(2):211-9.
 13. Fidrianny I, Sahar N, Ruslan K. Evaluation of antioxidant from various extracts of dragon fruit peels using DPPH, ABTS assays and correlation with phenolic, flavonoid, carotenoid content. Int. J. Res. Pharm. Sci., 2014;5(2):104-11.
 14. Winarsih H. Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta: Penerbit Kanisius; 2007. h.137-8.