

PENGARUH KONDISI KULTUR YANG BERBEDA TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER KAPANG ENDOFIT ASAL AKAR KUNYIT

EFFECT OF DIFFERENT CULTURE CONDITION ON ANTIOXIDANT SECONDARY METABOLITES FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM TURMERIC ROOT

Eris Septiana^{1*}, and Partomuan Simanjuntak^{1,2}

¹Research Center for Biotechnology, Indonesian Institute of Sciences (LIPI), Cibinong, West Java, Indonesia

²Faculty of Pharmacy, Pancasila University, Srengseng Sawah, Jakarta, Indonesia

ABSTRACT

Antioxidant is an interesting topic due to their capability to inhibit free radical and prevent damage because of oxidative processes. Endophyt fungi is one of antioxidant compound resources in nature. The low yield to gain antioxidant compound from fungi challenges to look for the composition of media and optimalization of growth conditions. This research aimed to know the effect of medium condition in different carbon and nitrogen sources as well as initial pH towards antioxidant activity of endophyt fungi Bo.Ci.Cl.A3. Shaker fermentation was used on 120 rpm at room temperature for 14 days. The carbon sources were glucose, sucrose, and starch and nitrogen sources were NaNO₃, NH₄NO₃, and yeast extract with initial pH at 5, 7, and 9. Ethyl acetate was used as extractor. The results showed that endophyt fungi can produce secondary metabolite as antioxidant at all variation of fermented media. The nitrogen source of yeast extract could increase antioxidant activity of endophyt fungi Bo.Ci.Cl.A3, while other sources such as nitrogen source, carbon sources, and different initial pH on the basal medium that were used did not give increasing antioxidant activity. The conclusion of this research was the substitution of nitrogen source with yeast extract (3 g/L) on the basal medium Czapek Dox's Broth could increase antioxidant activity of endophyt fungi Bo.Ci.Cl.A3.

Key words: antioxidant, DPPH, endophytic fungi, media variation

ABSTRAK

Antioksidan merupakan topik yang menarik karena kemampuannya dalam meredam radikal bebas dan mencegah kerusakan akibat oksidasi. Kapang endofit adalah salah satu sumber senyawa antioksidan di alam. Rendahnya hasil dalam memperoleh senyawa antioksidan dari kapang membuka peluang untuk mencari komposisi media dan kondisi pertumbuhan yang optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi media yang meliputi sumber karbon dan nitrogen serta pH awal fermentasi yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3. Metode fermentasi yang digunakan ialah fermentasi goyang dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 14 hari. Sumber karbon yang digunakan ialah glukosa, sukrosa, dan pati. Sedangkan sumber nitrogen yang digunakan ialah NaNO₃, NH₄NO₃, dan yeast extract. Kondisi pH awal yang digunakan ialah pH 5, 7, dan 9 dengan etil asetat sebagai bahan ekstraksi. Hasil yang didapatkan yaitu kapang endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder antioksidan pada semua variasi media fermentasi yang digunakan. Sumber nitrogen yeast extract dapat meningkatkan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3, sedangkan sumber nitrogen, sumber karbon, dan pH awal yang berbeda dari media basal yang digunakan tidak memberikan peningkatan aktivitas antioksidan. Sehingga kesimpulannya ialah bahwa penggantian sumber nitrogen berupa yeast extract (3g/L) pada medium basal Czapek Dox's Broth dapat meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3.

Kata kunci: antioksidan, DPPH, kapang endofit, variasi media

PENDAHULUAN

Radikal bebas memberikan dampak terhadap patogenesis dari beberapa penyakit pada

manusia seperti arteriosklerosis, kanker, diabetes melitus, kerusakan hati, inflamasi, kerusakan jaringan kulit, jantung koroner dan arthritis (Moon, *et al.*, 2006). Antioksidan menjadi topik yang menarik saat ini karena kemampuannya sebagai peredam radikal bebas dan menghambat

Corresponding author : Eris Septiana
Email: septiana.eris@gmail.com

peroksidasi lipid sehingga dapat melindungi tubuh manusia dari serangan beberapa penyakit yang disebabkan oleh reaksi radikal. Penggunaan antioksidan sintesis untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas telah dilaporkan menyebabkan timbulnya efek samping yang toksik sehingga perlu dilakukan pencarian sumber antioksidan baru dari alam (Radulovic *et al.*, 2007). Salah satu bahan alam yang banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi ialah senyawa golongan polifenolik yang dapat ditemukan sebagai senyawa metabolit sekunder dari tanaman dan fungi (Miller *et al.*, 1995). Beberapa fungi dilaporkan menghasilkan antioksidan, diantaranya ialah *Penicillium roquefortii*, *Aspergillus candidus*, *Mortierella*, *Emericella falconensis*, *Acremonium*, dan *Colletotrichum gloeosporioides* (Rios *et al.*, 2006).

Bioteknologi mencakup pemanfaatan sistem seluler untuk pengembangan proses dan produksi bahan bernilai ekonomi tinggi dan berguna bagi kehidupan manusia. Fungi merupakan salah satu objek bioteknologi yang menjanjikan dalam proses fermentasi yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Nogurira *et al.*, 2006). Fungi berfilamen (kapang) menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik dan aktivitas farmakologi lainnya seperti antikanker, antitumor, dan antioksidan (Fox and Howlett, 2008). Kemampuan fungi untuk ditumbuhkan dalam skala besar dan kemudahan dalam pemurnian produk yang didapat merupakan keunggulan fungi secara komersial (Chandra and Arora, 2014). Beberapa kapang endofit juga mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan.

Proses fermentasi menggunakan media cair yang telah tersedia di pasaran seringkali didapatkan hasil senyawa metabolit sekunder yang tidak terlalu banyak jumlahnya. Oleh karena itu peningkatan hasil senyawa metabolit sekunder sangat diperlukan guna mencukupi kebutuhan bahan aktif dalam skala produksi komersial. Salah satu cara yang dapat digunakan ialah dengan memodifikasi faktor fisik dan kimia proses fermentasi pada media cair seperti pH, sumber karbon, sumber nitrogen, waktu inkubasi, suhu dan pelarut untuk ekstraksi (Bhattacharyya and Jha, 2011).

Kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 merupakan kapang endofit yang diisolasi dari akar tanaman kunyit asal Bogor. Secara makroskopis kapang ini memiliki karakter permukaan berwarna jingga, permukaan seperti bludru, pola pertumbuhan *concentric ring*, warna sebalik jingga. Secara mikroskopis isolat ini memiliki konidiofor panjang,

ramping, sederhana, hialin, konidium hialin, kadang bersekat 2, oval memanjang, ukuran 5,49-10,50 x 2,31-3,52 μm (Septiana, 2014). Kapang endofit isolat Bo.Ci.Cl.A3 pada penelitian sebelumnya diketahui memiliki aktivitas antibakteri penghasil histamin dan antioksidan (Septiana and Simanjuntak, 2016). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi media yang meliputi sumber karbon dan nitrogen serta pH awal fermentasi yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3.

METODOLOGI

Fermentasi dan ekstraksi kapang endofit

Isolat kapang endofit yang digunakan ialah kapang endofit dari akar tanaman kunyit asal Bogor dengan kode isolat Bo.Ci.Cl.A3. Media basal fermentasi yang digunakan ialah media *Czapex Dox's Broth* dengan komposisi bahan penyusun meliputi sukrosa (25 g/L), NaNO_3 (3 g/L), K_2HPO_4 (1g/L), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g/L), KCl (0,5 g/L), MgSO_4 (0,5 g/L) pada kisaran pH 7. Variasi media meliputi sumber karbon yang berbeda yaitu dengan mengganti sukrosa dengan glukosa (25 g/L) dan pati larut air (25 g/L), sumber nitrogen yang berbeda yaitu dengan mengganti NaNO_3 dengan NH_4NO_3 (3 g/L), dan *yeast extract* (3 g/L), dan pH awal fermentasi yaitu dengan mengubah pH awal 7 menjadi 5 dan 9.

Isolat kapang endofit yang telah berumur 7 hari kemudian diambil dengan cara dilubangi dengan pelubang steril berdiameter 6 mm dan diambil sebanyak 2 buah untuk dipindahkan ke dalam 100mL media fermentasi dalam Erlenmeyer 250 mL. Fermentasi dilakukan di atas *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari pada suhu ruang. Setelah 14 hari, filtrat dan biomassa kapang endofit dipisahkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring steril dalam corong Buchner hampa udara. Filtrat kemudian diekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3 kali dalam corong pisah dan dipekatkan menggunakan labu penguap putar hampa udara sampai diperoleh ekstrak kering pekat.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan senyawa DPPH (Tiwari, *et al.*, 2006) dengan modifikasi pada panjang gelombang dari 515 nm menjadi 517 nm. Konsentrasi larutan uji sebesar 62,5; 125; 250; 500; 1000 ppm. Asam askorbat (vitamin C) sebagai kontrol positif sebesar 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm, serta DPPH kontrol 0,4 mM. Seluruh sampel larutan uji, kontrol dan asam askorbat (vitamin C) diinkubasi pada suhu

37 °C selama 30 menit dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Serapan seluruh sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan (1) dan nilai IC₅₀ yang merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50 % diperoleh dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % aktivitas antioksidan (sumbu y).

$$\text{aktivitas antioksidan} = \frac{\text{kontrol} - \text{kelakuan}}{\text{kontrol}} \times 100\% \dots (1)$$

Keterangan:

Kontrol : serapan larutan DPPH 0, 4mM

Perlakuan : serapan seri konsentrasi ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit atau baku pembandingan vitamin C

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh sumber karbon yang berbeda pada aktivitas antioksidan kapang endofit menunjukkan bahwa penggantian sumber karbon dari sukrosa sebagai komponen media basal menjadi glukosa dan pati tidak meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 (Tabel 1). Karbohidrat merupakan senyawa struktural dan penyimpanan di dalam sel kapang dan berperan penting dalam pertumbuhan maupun juga dalam produksi senyawa metabolit sekunder yang berguna (Abo-Elmag, 2014). Penelitian sebelumnya yang sejalan melaporkan bahwa sukrosa merupakan sumber karbon yang menjanjikan untuk menghasilkan senyawa bioaktif terutama antioksidan dibandingkan sumber karbon yang lain (Yen and Chang, 1999). Hal ini menjelaskan bahwa spesies kapang dapat menggunakan sebagian sumber karbon untuk pertumbuhan vegetatifnya namun tidak dapat menghasilkan molekul struktural yang khas. Ketersediaan sumber karbon yang relatif mudah dicerna meningkatkan proses metabolisme primer dan senyawa yang lebih lambat dicerna dapat memicu terbentuknya produk sekunder (Abo-Elmag, 2014).

Pengaruh sumber nitrogen yang berbeda pada aktivitas antioksidan kapang endofit menunjukkan bahwa hanya penggantian sumber nitrogen dari NaNO₃ sebagai komponen media basal menjadi *yeast extract* dapat meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3, sedangkan penggantian sumber nitrogen dengan NH₄NO₃ tidak meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidannya (Tabel 2).

Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa media fermentasi yang mengandung sumber nitrogen organik dari *yeast extract* akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai antioksidan yang lebih tinggi aktivitasnya dibandingkan dengan sumber nitrogen anorganik (Gazi *et al.*, 2004).

Seperti halnya sumber karbon, sumber nitrogen juga sangat penting pengaruhnya bagi pertumbuhan kapang. Nitrogen merupakan unsur utama dalam pembangunan sel terlebih juga dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Secara umum media *Czapek Dox's Broth* merupakan media dengan komposisi sukrosa sebagai sumber karbon dan NO₃ sebagai sumber nitrogen. Media ini sangat sesuai untuk menumbuhkan kapang dengan tujuan memperoleh metabolit sekunder, khususnya yang mempunyai aktivitas antioksidan (Arora and Chandra, 2010). Akan tetapi pada penelitian ini penambahan sumber nitrogen *yeast extract* memiliki aktivitas yang lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan bahwa kapang yang satu dengan kapang yang lain memiliki kemampuan yang berbeda dalam menggunakan sumber nitrogen yang tersedia guna menghasilkan senyawa metabolit sekunder antioksidan.

Pengaruh pH awal yang berbeda pada aktivitas antioksidan kapang endofit menunjukkan bahwa perubahan kondisi keasaman awal media basal dari pH 7 menjadi pH 5 dan pH 9 tidak meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 (Tabel 3). Hal ini sejalan dengan penelitian Gazi *et al.* (2004) yang melaporkan bahwa kapang cenderung menghasilkan metabolit sekunder sebagai antioksidan pada kisaran pH asam dengan kondisi optimal terbentuknya senyawa aktif pada pH awal 7.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pH awal fermentasi berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan kapang. Secara umum kapang akan menghasilkan metabolit sekunder pada kisaran pH normal, dan tidak ditemukan senyawa bioaktif pada pH terlalu ekstrim (Miao *et al.*, 2006). Hal ini dimungkinkan karena terjadinya produksi metabolit yang tertunda yang disebabkan oleh terhambatnya pertumbuhan miselia atau karena produksi metabolit bioaktif yang menurun di bawah kondisi pH yang kurang sesuai (Abo-Elmag, 2014). Selain itu pH juga berhubungan dengan karakteristik permeabilitas dari dinding sel dan membran sehingga berpengaruh terhadap pengambilan dan kehilangan ion pada media nutrisi pertumbuhannya (Arora and Chandra, 2010).

Tabel I. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 dengan sumber karbon_q yang berbeda

Sumber karbon	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Aktivitas antioksidan (%)			Rata-rata ± SD (%)
		I	II	III	
Glukosa	62,5	8,22	7,86	8,10	8,06±0,18
	125	9,51	10,56	10,09	10,05±0,53
	250	19,01	15,38	17,25	17,21±1,82
	500	25,23	28,40	26,88	26,84±1,58
	1000	31,69	33,33	32,51	32,51±0,82
Sukrosa	62,5	15,26	16,08	15,73	15,69±0,41
	125	15,85	15,73	15,85	15,81±0,07
	250	16,43	15,96	16,20	16,20±0,23
	500	39,55	41,67	40,61	40,61±1,06
	1000	50,00	55,28	52,70	52,66±2,64
Pati	62,5	4,69	8,10	8,10	6,96±1,97
	125	13,50	13,27	12,91	13,22±0,30
	250	19,84	19,60	20,07	19,84±0,23
	500	34,86	34,62	35,09	34,86±0,23
	1000	36,27	35,92	35,68	35,95±0,30

Tabel II. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 dengan sumber nitrogen yang berbeda

Sumber nitrogen	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Aktivitas antioksidan (%)			Rata-rata ± SD (%)
		I	II	III	
NaNO ₃	62,5	8,65	5,73	7,25	7,21±2,07
	125	11,58	10,18	10,81	10,86±0,99
	250	19,72	18,45	19,08	19,08±0,90
	500	35,62	37,79	36,64	36,68±1,53
	1000	51,53	54,96	53,18	53,22±2,43
NH ₄ NO ₃	62,5	3,31	5,73	4,58	4,54±1,71
	125	6,74	8,91	7,89	7,85±1,53
	250	19,72	25,19	22,52	22,48±3,87
	500	29,26	33,59	31,42	31,42±3,06
	1000	56,74	54,20	55,47	55,47±1,80
Yeast Ekstrak	62,5	37,79	42,62	40,20	40,20±3,42
	125	53,69	58,27	55,98	55,98±3,24
	250	68,45	60,05	64,25	64,25±5,94
	500	73,03	72,14	73,92	73,03±1,26
	1000	91,48	91,73	91,98	91,73±0,36

Aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif dengan metode peredaman radikal bebas dapat dilihat pada Tabel 4. Penggunaan vitamin C sebagai kontrol positif pada penelitian ini didasarkan bahwa vitamin C merupakan vitamin yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat bereaksi dengan radikal bebas pada kondisi ekstraseluler (Isnindar, *et al.*, 2016). Kemampuan antioksidan didasarkan pada nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa seluruh sampel uji sebagian besar masih relatif lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C (Gambar 1).

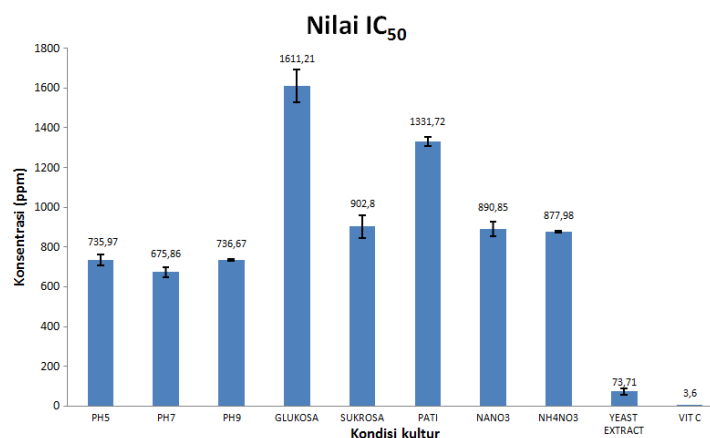
Penggantian sumber karbon menjadi glukosa dan pati serta sumber nitrogen menjadi NH₄NO₃ maupun perubahan kondisi pH awal menjadi pH 5 dan 9 tidak memberikan peningkatan aktivitas antioksidan dibandingkan dengan kondisi media fermentasi basal CDB. Penambahan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen pengganti NaNO₃ pada media basal merupakan satu-satunya pengaruh yang memberikan peningkatan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan suatu bahan dapat dikelompokkan ke dalam beberapa kategori yaitu nilai IC₅₀ < 50 ppm kategori sangat kuat, 50-100

Tabel III. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 dengan pH awal yang berbeda

pH awal	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Aktivitas antioksidan (%)			Rata-rata ± SD (%)
		I	II	III	
pH 5	62,5	14,67	15,26	15,85	15,26±0,59
	125	15,38	18,19	16,78	16,78±1,41
	250	19,95	23,59	16,31	19,95±3,64
	500	49,41	48,94	47,65	48,67±0,91
	1000	61,38	60,45	59,39	60,41±0,10
pH 7	62,5	17,72	17,49	17,96	17,72±0,23
	125	22,88	20,89	18,90	20,89±2,00
	250	36,50	36,62	36,50	36,54±0,07
	500	49,77	49,53	49,65	49,65±0,12
	1000	57,98	63,50	60,80	60,76±2,76
pH 9	62,5	16,08	19,60	17,84	17,84±1,76
	125	21,36	20,89	21,83	21,36±0,47
	250	36,15	35,23	34,39	35,29±0,88
	500	47,54	45,54	49,53	47,54±2,00
	1000	55,40	58,57	57,04	57,00±1,58

Tabel 4. Aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas antioksidan (%)			Rata-rata ± SD (%)
	I	II	III	
4	33,21	37,40	35,37	35,33±2,97
6	80,92	80,03	80,41	80,45±0,63
8	91,98	92,11	92,24	92,11±0,09
10	94,15	94,66	94,40	94,40±0,36
12	94,66	96,18	95,42	95,42±1,08



Gambar 1. Nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3 pada kondisi kultur yang berbeda dengan kontrol positif vitamin C

ppm kategori kuat, 101-150 ppm kategori sedang, dan > 150 ppm kategori lemah (Blois, 1958). Ekstrak dengan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan aktivitas antioksidan menjadi kategori kuat dengan IC₅₀ sebesar 75,71 (± 14,65) ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak lainnya masuk kategori lemah

dengan IC₅₀ > 150 ppm sedangkan aktivitas antioksidan vitamin C masuk kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,6 (± 0,15) ppm.

KESIMPULAN

Pengaruh kondisi kultur berupa penggantian sumber nitrogen pada medium basal

Czapek Dox's Broth dengan *yeast extract* (3 g/L) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3. Pengaruh kondisi kultur berupa penggantian sumber karbon dan kondisi pH awal yang berbeda dengan medium basal serta sumber nitrogen selain *yeast extract* menurunkan aktivitas antioksidan kapang endofit Bo.Ci.Cl.A3.

TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Imroatul Lathifah, Tasqia Tunnisa, dan Khayatun Nufus atas asistensinya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo-Elmag, H.I. 2014. Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Chaetomium madrasense* AUMC 9376. *J. Genet. Engineer. Biotechnol.* 12: 21-26.
- Arora, D.S. and Chandra, P. 2010. Assay of antioxidant potential of two *Aspergillus* isolates by different methods under various physio-chemical conditions. *Braz. J. Microbiol.* 41: 765-777.
- Bhattacharyya, P.N. and Jha, K.D. 2011. Optimization of cultural condition affecting growth and improved bioactive metabolite production by subsurface *Aspergillus* strain TSF-146. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* 2: 133-143.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radicals. *Nature.* 181: 1199-2000.
- Chandra, P. and Arora, D.S. 2014. Antioxidant potential of two strains of *Aspergillus wentii* isolated from soil of different areas of Punjab, India and its optimization using different statistical approaches. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 4: 31-41.
- Fox, E.M. and Howlett, J.B. 2008. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Curr. Opin. Microbiol.* 11: 1-7.
- Gazi, M.R., Kanda, K. and Kato, F. 2004. Optimization of various cultural conditions on growth and antioxidant activity generation by *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2373. *J. Biol. Sci.* 4: 224-228.
- Isnindar, Wahyuono, S., Widyarini, S. and Yuswanto. 2016. Determination of antioxidant activities of buas-buas leaves (*Premna serratifolia* L.) using dpph (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. *Trad. Med. J.* 21: 111-115.
- Miao, L., Kwong, T.F.N. and Qian, P.Y. 2006. Effect of culture condition on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium c.f. saccharicola*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72: 1063-1073.
- Miller, M.J., Diplock, A.T. and Rice-Evan, C.A. 1995. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *J. Agric. Food. Chem.* 43: 1794-1801.
- Moon, B.S., Ryoo, I.J., Yun, B.S., Bae, K.S., Lee, K.D., Yoo, I.D. and Kim, J.P. 2006. Glyscavins A, B and C, new phenolic glycoside antioxidant produced by a fungus *Mycelia sterilia* F020054. *J. Antibiot.* 59: 735-739.
- Nogurira, M.A., Diaz, G., Andriali, W., Faiconi, A.F. and Stangarlin, S.R. 2006. Secondary metabolism from *Diplodia maydis* and *Sclerotium rolfsi* with antibiotic activity. *Braz. J. Microbiol.* 37: 14-16.
- Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G., Smelcerovic, A., Spitteller, M. and Asakawa, Y. 2007. Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food. Chem.* 103: 15-21.
- Rios, M.F., Pajan, C.M.G., Galan, R.H., Sanchez, A.J.M. and Callado, I.G. 2006. Synthesis and free radical scavenging activity of a novel metabolite from the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16: 5836-5839.
- Septiana, E. 2014. Keragaman cendawan endofit asal tanaman kunyit (*Curcuma longa*) dan aktivitas penghambatannya terhadap pembentukan histamin, *Thesis*, Bogor, ipb.
- Septiana, E. and Simanjuntak, P. 2016. Aktivitas penghambatan bakteri pembentuk histamine dan antioksidan kapang endofit kunyit sebagai pengawet alami. *Biopropal Industri.* 7: 1-8.
- Tiwari, V., Shanker, R., Srivastava, J. and Vanker, P.S. 2006. Change in antioxidant activity of spices-turmeric and ginger on heat treatment. *Electron. J. Environ. Agric. Food. Chem.* 5: 1313-1317.
- Yen, G. and Chang, Y. 1999. Medium optimization for the production of antioxidants from *A. candidus*. *J. Food. Prot.* 62: 657-661.