



POTENSI CENDAWAN *Xylaria* sp. SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN POTENTIAL OF FUNGI *Xylaria* sp. AS ANTIOXIDANT SOURCES

Handika Dwi Prasetyo, Sri Listiyowati*, Irmanida Batubara

Institut Pertanian Bogor, Jl Raya Dramaga, Babakan 16680 Bogor

*Corresponding author: srili@apps.ipb.ac.id

Naskah Diterima: 27 Juli 2022; Direvisi: 22 Oktober 2022; Disetujui: 21 Agustus 2023

Abstrak

Pencegahan radikal bebas di dalam tubuh dapat dilakukan dengan menggunakan antioksidan. Cendawan *Xylaria* memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berasal dari metabolit sekunder yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami baru. Penelitian ini bertujuan menentukan potensi *Xylaria* sp. (strain F, D, C) sebagai sumber antioksidan melalui pengukuran aktivitas antioksidan dan kandungan total flavonoidnya. Cendawan ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Yeast Extract Broth* (PDYEB) dan diinkubasi 14 hari dengan kondisi gelap dan statis. Miselium cendawan digerus dengan bantuan nitrogen cair, kemudian ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut metanol sebanyak dua kali ulangan. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan kandungan total flavonoid ditentukan menggunakan metode aluminium klorida ($AlCl_3$) yang dinyatakan ekuivalen kuersetin (QE). Seluruh sampel *Xylaria* sp. memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dan kandungan flavonoid yang juga rendah. *Xylaria* sp. strain F memiliki aktivitas antioksidan tertinggi sebesar $1915,14 \pm 24,73 \mu\text{g/mL}$ dan *Xylaria* sp. strain D memiliki kandungan total flavonoid tertinggi sebesar $2,41 \pm 0,09 \text{ mg QE/g}$ ekstrak. Senyawa flavonoid pada sampel *Xylaria* sp. tidak menjadi senyawa utama yang menunjukkan aktivitas antioksidannya.

Kata Kunci: DPPH; Flavonoid; IC_{50} ; Radikal bebas; *Xylaria* sp.

Abstract

Prevention of free radicals in the body can be done by using antioxidants. *Xylaria* fungus contains bioactive compounds derived from secondary metabolites that have the potential as a source of new natural antioxidants. This study aims to determine the potential of *Xylaria* sp. (strains F, D, C) as a source of antioxidants by measuring their antioxidant activity and total flavonoid content. The fungus was grown on *Potato Dextrose Yeast Extract Broth* (PDYEB) and incubated for 14 days in dark and static conditions. The mycelium of the fungus was crushed with the help of liquid nitrogen, then the extraction was carried out using methanol as a solvent for two repetitions. Antioxidant activity was determined using the *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) method and the total flavonoid content was determined using the aluminium chloride ($AlCl_3$) method which is expressed as quercetin equivalent (QE). All samples of *Xylaria* sp. have the weakest antioxidant activity and lowest flavonoid content. *Xylaria* sp. strain F had the highest antioxidant activity of $1915,14 \pm 24,73 \mu\text{g/mL}$ and *Xylaria* sp. strain D had the highest total flavonoid content of $2,41 \pm 0,09 \text{ mg QE/g}$ extract. The flavonoid compounds in the sample *Xylaria* sp. did not become the main compound showing antioxidant activity.

Keywords: DPPH; Flavonoid; Free radicals; IC_{50} ; *Xylaria* sp.

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v16i2.27468>

PENDAHULUAN

Senyawa radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dan umumnya sangat tidak stabil dan reaktif (Fang et al., 2002). Elektron yang tidak berpasangan seringkali memiliki sifat tertentu seperti elektrofilik. Sifat elektrofilik pada senyawa radikal adalah dengan menyerang senyawa yang memiliki intensitas elektron cukup tinggi seperti pada protein, asam nukleat, dan ikatan rangkap karbon (fosfolipid, asam lemak tak jenuh ganda (PUFAs)) dan memicu reaksi berantai (Phaniendra et al., 2015). Senyawa tersebut sering dijumpai dalam aktivitas sehari-hari seperti radiasi sinar matahari, alkohol, dan polusi (Cheeseman & Slater, 1993). Radikal bebas juga sering memicu berbagai gangguan kesehatan seperti diabetes melitus (Asmat et al., 2016), penyakit kulit (Kruk & Duchnik, 2014), neurodegeneratif seperti alzheimer dan parkinson (Liu et al., 2017), autoimun (Sukkar & Rossi, 2004), dan infertil pada laki-laki dan perempuan (Agarwal et al., 2012; Tvrdá et al., 2011).

Antioksidan sering digunakan dalam menangkal senyawa radikal bebas di dalam tubuh. Peran antioksidan dalam menangkal radikal bebas adalah bertindak sebagai pasangan redoks untuk mereduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menghambat oksidasi molekul tersebut (Henriksen, 2019). Selain itu, antioksidan digunakan untuk industri makanan untuk penyimpanan jangka panjang (Liu et al., 2007). Antioksidan dapat berasal dari sumber alami dan sintetis. Flavonoid, vitamin C, dan β -karoten merupakan contoh sumber antioksidan alami (Bahriul et al., 2014) sedangkan contoh antioksidan sintetis seperti *Butylated Hidroxy Aniline* (BHA) dan *Butylated Hidroxy Toluene* (BHT) (Kikuzaki et al., 2002). Park et al. (2019) melaporkan bahwa BHA memberikan efek sikotoksik terhadap sel astrosit manusia sedangkan BHT dilaporkan memiliki efek kardiotoksik dan berpotensi sebagai penyebab teratogen bagi organisme perairan (Sarmah et al., 2020). Berdasarkan hal-hal tersebut, perlu dilakukan pencarian beberapa sumber antioksidan alami sehingga dapat mengurangi penggunaan antioksidan sintetis.

Cendawan memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berasal dari metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai sumber antioksidan alami baru, salah satunya berasal dari cendawan saprob (Wang et al., 2008). Cendawan saprob dipilih karena genusnya banyak diketahui sebagai penghasil senyawa bioaktif antioksidan dan murah dalam segi produksi dan pengembangan lebih lanjut (Monkai et al., 2013). *Xylaria* merupakan salah satu spesies cendawan yang mudah ditemukan dan tersebar secara luas di zona beriklim sedang dan tropis serta memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa bioaktif, salah satunya antioksidan (Ma et al., 2013). Penelitian sebelumnya terhadap *Xylaria* sp. yang berasal dari *Ginkgo biloba* dilaporkan memiliki potensi menghasilkan aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH oleh antioksidan sebesar $66,29 \pm 0,67$ % dan memiliki kandungan total flavonoid yang dinyatakan ekuivalen rutin (RE) sebesar $86,76 \pm 0,58$ mg RE/g ekstrak (Liu et al., 2007). Selain itu, kandungan terpenoid dari cendawan *Xylaria primorskensis* saprob yang memiliki penghambatan terhadap DPPH sekitar 60% (Adnan et al., 2018).

Persebaran *Xylaria* di lingkungan kampus Institut Pertanian Bogor banyak ditemukan hidup secara saprob pada serasah kayu dan memiliki morfologi stroma yang beragam. Kelimpahannya tersebut menandakan *Xylaria* cukup mudah ditemukan pada daerah beriklim tropis seperti Indonesia. Anggota genus *Xylaria* memiliki banyak potensi yang dapat digunakan dan dikembangkan lebih lanjut untuk bidang kesehatan seperti zat antikanker, anticendawan, dan antioksidan (Frantika & Purnaningsih, 2016). Namun, eksplorasi terkait potensi *Xylaria* yang hidup saprob di Indonesia masih sedikit yang dilaporkan, khususnya yang berpotensi dalam bidang kesehatan. Menurut Achmad et al. (2013) *Xylaria* adalah cendawan yang memiliki genus besar sehingga diperlukan studi pengembangan secara menyeluruh. Berdasarkan informasi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi *Xylaria* sp. strain F, D, C koleksi Laboratorium Mikologi-Departemen Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor sebagai sumber antioksidan alami dengan mengukur aktivitas antioksidan dan kandungan total flavonoidnya.

MATERIAL DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain ialah tiga isolat *Xylaria* sp. (strain F, D, C) hasil isolasi dari lapang kampus IPB Dramaga, Bogor yang merupakan koleksi Laboratorium Mikologi-Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor.

Penyiapan Kultur Cendawan

Kultur *Xylaria* sp. (strain F, D, C) ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Kultur cendawan yang berusia 7 hari digunakan sebagai sumber inokulum dari kultur yang akan diekstraksi.

Pembuatan Sampel Ekstrak Cendawan

Metode ekstraksi cendawan mengacu pada Ramesh et al. (2015) dengan modifikasi komposisi media pertumbuhan dan kondisi perlakuan ekstraksi yang digunakan. Koloni cendawan sampel yang sudah ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) berumur 7 hari dipotong sebanyak tiga buah (\emptyset 5 mm) dan diinokulasikan pada labu Erlenmeyer ukuran 500 mL yang berisi 200 mL media *Potato Dextrose Yeast Extract Broth* (PDYEB), sebanyak tiga kali ulangan. Inokulum diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang dalam keadaan gelap dan kondisi statis. Biomassa miselium dari inokulum kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 48 jam (sampai berat konstan). Miselium yang sudah dikeringkan kemudian ditimbang sebanyak 1,6 g untuk strain F, 1,4 g untuk strain D, 1 g untuk strain C sebagai bobot awal sampel lalu digerus dengan bantuan nitrogen cair dan dilarutkan dalam menggunakan pelarut polar terbaik untuk *Xylaria*, yaitu metanol p.a sebanyak 15 mL dengan perbandingan 1:10 (w/v) (Rebbapragada & Kalyanaraman, 2016). Larutan ekstrak lalu digoyang dengan kecepatan 125 rpm di *rotary shaker* (WiseShake SHO-2D) selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring Whatman no. 1. Massa hasil penyaringan kemudian dilarutkan kembali dengan metanol p.a, proses ekstraksi ini diulang sebanyak dua kali. Selanjutnya hasil ekstraksi dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C. Hasil dalam bentuk pasta kemudian disimpan pada suhu 4 °C sebagai stok analisis dan ditimbang sebagai berat ekstrak. Persen rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus yang mengacu Dhanani et al. (2017) adalah % rendemen (b/b) = $\frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100$.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan pada cendawan sampel mengacu pada metode Djakaria et al. (2020). Larutan ekstrak kasar cendawan sampel diencerkan dengan metanol untuk memperoleh konsentrasi 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, dan 6.000 ppm. Asam askorbat sebagai kontrol positif diencerkan dengan metanol untuk memperoleh konsentrasi 15, 10, 7, 3, dan 1 ppm. Masing-masing larutan hasil pengenceran ditambahkan 100 μ L DPPH 125 μ M kemudian dimasukkan ke dalam 96 *well plates*. Larutan blanko dibuat dengan 100 μ L DPPH 125 μ M dan 100 μ L metanol. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan kondisi gelap kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader* (Epoch BioTek) pada panjang gelombang 517 nm. Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai *half-maximal inhibitory concentration* (IC₅₀) < 50 μ g/mL, kuat (50–100 μ g/mL), sedang (100–150 μ g/mL), lemah (150–200 μ g/mL), dan sangat lemah (> 200 μ g/mL) (Molyneux, 2004). Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan hubungan regresi dari setiap konsentrasi dengan % inhibisi dengan rumus % inhibisi = $\frac{(\text{absorbansi blanko terkoreksi} - \text{absorbansi sampel terkoreksi})}{(\text{absorbansi blanko terkoreksi})} \times 100$.

Pengukuran Kandungan Total Senyawa Flavonoid

Pengukuran kandungan total flavonoid pada cendawan sampel mengacu pada metode Djakaria et al. (2020). Larutan sampel sebanyak 10 μ L ditambah 60 μ L metanol, 10 μ L AlCl₃ (10% w/v), 10 μ L potasium asetat (1 M), dan 110 μ L akuades. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada

suhu ruang dan kondisi gelap kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader (Epoch BioTek) pada panjang gelombang 415 nm. Kandungan total senyawa flavonoid ditentukan dari kurva standar kuersetin dengan berbagai konsentrasi, yaitu 25, 50, 100, 150 $\mu\text{g/mL}$, lalu dinyatakan ekuivalen kuersetin (mg QE/g ekstrak atau mmol QE/g ekstrak).

Analisis Data

Data dilakukan analisis varians untuk menentukan perbedaan tiap variabel dengan menggunakan program R *studio* versi 4.1.1 melalui perhitungan *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Data tersebut dinyatakan secara signifikan berbeda apabila nilai *p-value* <0,05. Analisis korelasi dan regresi untuk menentukan kurva standar kuersetin serta nilai IC_{50} digunakan program Microsoft Excel 2010. Hubungan antara kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan (IC_{50}) ditentukan dengan menggunakan korelasi Pearson. Penetapan tingkat korelasi dilakukan berdasarkan hasil koefisien, yaitu korelasi sangat lemah (0,00–0,19), korelasi lemah (0,20–0,39), korelasi sedang (0,40–0,69), korelasi kuat (0,70–0,89), dan korelasi sangat kuat (0,90–1,00) (Fowler et al., 1998).

HASIL

Ekstraksi Cendawan *Xylaria* sp.

Rendemen hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol p.a menunjukkan cendawan *Xylaria* sp. strain D lebih tinggi dibandingkan dua strain lainnya, dengan nilai rendemen $26,68 \pm 3,26$ % (Tabel 1). Rendemen yang tinggi pada *Xylaria* sp. strain D menunjukkan kandungan ekstrak senyawa bioaktif lebih banyak dibandingkan kedua strain lainnya.

Tabel 1. Nilai rendemen ekstraksi cendawan *Xylaria* sp.

| Strain sampel | Rendemen (%) \pm SD |
|----------------------|-----------------------|
| <i>Xylaria</i> sp. C | $16,48^b \pm 1,46$ |
| <i>Xylaria</i> sp. D | $26,68^a \pm 3,26$ |
| <i>Xylaria</i> sp. F | $14,41^b \pm 2,09$ |

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda, berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji DMRT)

Aktivitas Antioksidan Cendawan *Xylaria* sp.

Hasil uji aktivitas antioksidan cendawan dengan metode DPPH, *Xylaria* sp. strain F memiliki nilai IC_{50} tertinggi yaitu $1915,14 \pm 24,73$ $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan kedua strain lainnya (Tabel 2). Namun, aktivitas antioksidan cendawan sampel memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dibandingkan asam askorbat sebagai kontrol positif yang memiliki nilai IC_{50} sebesar $3,60 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sangat kuat (Tabel 2).

Tabel 2. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan cendawan *Xylaria* sp.

| Strain sampel | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD |
|---------------------------------|--|
| <i>Xylaria</i> sp. C | $3338,22^b \pm 384,79$ |
| <i>Xylaria</i> sp. D | $4270,92^a \pm 148,92$ |
| <i>Xylaria</i> sp. F | $1915,14^c \pm 24,73$ |
| Asam askorbat (Kontrol positif) | $3,60^d \pm 0,10$ |

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda, berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji DMRT)

Kandungan Total Flavonoid Cendawan *Xylaria* sp.

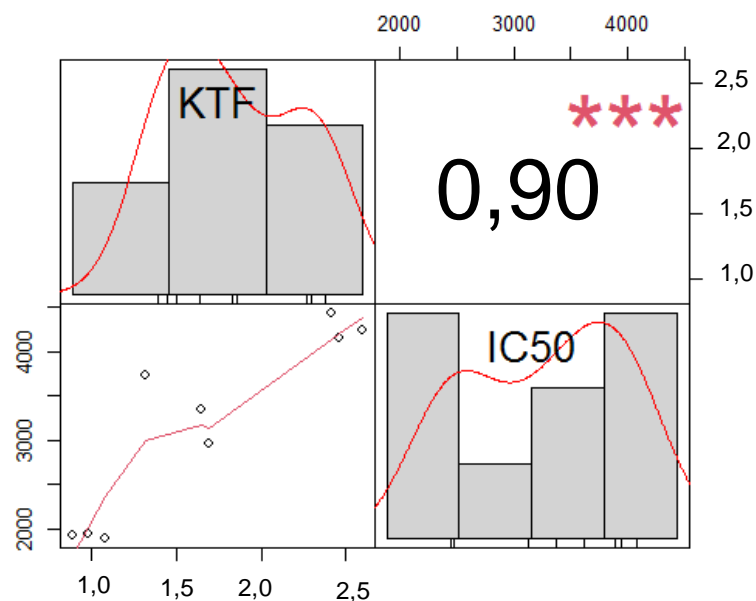
Hasil penentuan kandungan total flavonoid pada cendawan menunjukkan bahwa *Xylaria* sp. strain D memiliki nilai total kandungan flavonoid lebih besar yaitu 2,41 mg QE/ g ekstrak atau 0,008 mmol QE/g ekstrak dibanding kedua strain lainnya (Tabel 3). Hasil uji korelasi Pearson

menunjukkan bahwa kandungan total flavonoid seluruh sampel *Xylaria* sp. berkorelasi positif sangat kuat dengan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,90 (Gambar 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam sampel sebagai antioksidan bersifat lemah, karena ekstrak yang diperlukan untuk mendapatkan IC_{50} semakin besar. Sebagai contoh, *Xylaria* sp. D memiliki kandungan flavonoid paling tinggi (Tabel 3) dan jumlah bahan yang diperlukan untuk menghasilkan IC_{50} juga paling besar (Tabel 2). Sebaliknya, *Xylaria* sp. F memiliki kandungan flavonoid paling rendah (Tabel 3) dan jumlah bahan yang diperlukan untuk menghasilkan IC_{50} juga paling rendah (Tabel 2).

Tabel 1. Nilai kandungan total flavonoid cendawan *Xylaria* sp.

| Strain sampel | Kandungan total flavonoid | |
|----------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | mg QE/ g ekstrak \pm SD | mmol QE/ g ekstrak \pm SD |
| <i>Xylaria</i> sp. C | 1,69 ^b \pm 0,20 | 0,005 ^b \pm 0,0006 |
| <i>Xylaria</i> sp. D | 2,41 ^a \pm 0,09 | 0,008 ^a \pm 0,0003 |
| <i>Xylaria</i> sp. F | 1,07 ^c \pm 0,09 | 0,003 ^c \pm 0,0003 |

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda, berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji DMRT)



Gambar 1. Korelasi Pearson antara kandungan total flavonoid (KTF) dan aktivitas antioksidan (IC_{50}) cendawan *Xylaria* sp.

PEMBAHASAN

Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Cendawan *Xylaria* sp.

Rendemen ekstraksi merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu sampel terhadap awal berat sampel dan digunakan untuk menentukan seberapa banyak kandungan senyawa bioaktif dalam bahan yang diekstraksi (Utami et al., 2020). Ekstraksi cendawan sampel *Xylaria* sp. dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi berupa perendaman sampel dalam pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif target yang akan diambil melalui pemanasan rendah atau tanpa pemanasan sama sekali (Chairunnisa et al., 2019). Berdasarkan Tabel 1, tingginya rendemen pada *Xylaria* sp. strain D sebesar $26,68 \pm 3,26\%$, menunjukkan senyawa yang terkandung pada sampel lebih bersifat polar dan jumlah ekstrak yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan sampel lainnya, seperti *Xylaria* sp. strain F dan C yang memiliki nilai rendemen berturut-turut sebesar $14,41 \pm 2,09\%$ dan $16,48 \pm 1,46\%$. Pelarut pengestraksi yang digunakan adalah metanol p.a dikarenakan termasuk senyawa polar dan dilaporkan mampu mengekstraksi lebih banyak senyawa polar (Zeroual et al., 2021). Hasil pada penelitian ini juga cukup tinggi dibandingkan rendemen *Xylaria nigripes* yang menggunakan

pelarut air panas dan etanol 70%, berturut-turut sebesar $5,5 \pm 0,1\%$ dan $3,4 \pm 0,4\%$ (Divate et al., 2017).

Perbedaan hasil rendemen dari setiap ekstraksi tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi (Do et al., 2014). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi pada penelitian ini adalah pelarut polar yaitu metanol. Hal tersebut dikarenakan senyawa antioksidan target yang diambil yaitu flavonoid, yang tergolong ke dalam senyawa polar. Metanol merupakan pelarut polar yang baik dan dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar, seperti flavonoid (Khoddami et al., 2013). Pemanasan dengan suhu tinggi selama ekstraksi juga dapat berdampak pada berkurangnya aktivitas antioksidan karena meningkatkan proses oksidasi dan reaksi degeneratif (Sultana et al., 2009). Kombinasi antara suhu tinggi dan waktu tinggi juga dapat menyebabkan hilangnya senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan (González-Montelongo et al., 2010).

Aktivitas Antioksidan Cendawan *Xylaria* sp.

Aktivitas antioksidan cendawan *Xylaria* sp. pada penelitian ini dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan kemampuan sebuah sampel dalam menghambat radikal bebas oleh antioksidan sebesar 50%. Berdasarkan Tabel 2, hasil aktivitas antioksidan *Xylaria* sp. strain F yang tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $1915,14 \pm 24,73 \mu\text{g/ml}$ lebih rendah dibandingkan penelitian yang dilakukan Wangsawat et al. (2021) pada spesies *Xylaria vinacea*, *Xylaria siamensis*, *Xylaria thienhirunae*, dan *Xylaria chaiyapumensis* yang berasosiasi dengan sarang rayap memiliki nilai IC_{50} ($<1,00 \mu\text{g/mL}$) sehingga dapat dikategorikan sangat kuat. Hasil penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan penelitian oleh Aytar et al. (2020) cendawan *Armillaria mellea* saprob dan *Macrolepiota procera* saprob memiliki nilai IC_{50} berturut-turut sebesar $1,91 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ dan $0,191 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ yang termasuk aktivitas antioksidan sangat kuat.

Perbedaan nilai IC_{50} pada setiap sampel cendawan *Xylaria* sp. menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan strain cendawan, substrat tumbuh, media kultur, dan pelarut dari ekstraksi. Strain cendawan berhubungan dengan gen yang dimiliki untuk menghasilkan bahan aktif bersifat antioksidan. Penelitian oleh Hameed et al. (2017) terhadap cendawan *Mucor circinelloides* menunjukkan bahwa perbedaan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh gen setiap strain. Nutrisi yang terkandung dalam media kultur juga dapat mendukung untuk pembentukan metabolit sekunder (Mathan et al., 2013). Media yang digunakan pada penelitian ini meliputi kentang dekstrosa dan *yeast extract* yang digunakan pada penelitian ini merupakan sumber nutrisi yang optimal untuk mendukung pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder serta mendukung peningkatan aktivitas antioksidan (Agastian et al., 2013). Penelitian oleh Rebbapragada dan Kalyanaraman (2016) mengenai optimasi aktivitas antioksidan *Xylaria feejeensis* menemukan bahwa dekstrosa merupakan sumber mineral dan karbon dan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen memiliki aktivitas penghambatan DPPH sebagai antioksidan tertinggi di atas 69%. Substrat tumbuh cendawan juga berperan dalam asimilasi nutrisi dalam pembentukan bahan senyawa aktif pada cendawan. Cendawan *Xylaria* sp. yang digunakan pada penelitian ini adalah cendawan saprob yang biasa ditemukan pada serasah kayu sehingga memiliki nilai aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan cendawan yang memiliki asosiasi dengan tumbuhan atau dengan substrat lainnya. Penelitian Mihai et al. (2022) mengungkapkan bahwa cendawan edibel tiram yang ditumbuhkan pada limbah dapat memengaruhi jumlah molekul aktif biologis karena adanya kehadiran lignin.

Kandungan Total Flavonoid Cendawan *Xylaria* sp.

Kandungan total flavonoid cendawan sampel ditentukan menggunakan metode analisis kuantitatif dengan $AlCl_3$. Prinsip metode analisis ini adalah dengan pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keton C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari golongan flavon dan flavonol atau dengan gugus orto-dihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid (Ahmed & Iqbal, 2018). Total kandungan flavonoid sampel kemudian ditentukan berdasarkan ekuivalen dengan kurva standar kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai standar karena termasuk golongan flavonoid dari gugus flavonol yang memiliki gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3

atau C-5 yang berdekatan dari flavon dan flavonol (Matsuri et al., 2019). Berdasarkan Tabel 3, total kandungan flavonoid pada penelitian tertinggi yaitu *Xylaria* sp. strain D sebesar $2,41 \pm 0,09$ mg QE/g ekstrak lebih rendah dibandingkan oleh *Xylaria* sp. asal *Mussaenda luteola* yang memiliki total kandungan flavonoid sebesar $15,85 \pm 0,08$ mg RE/ g ekstrak (Gunasekaran et al., 2017) dan *Pleurotus ostreatus* yang menggunakan media modifikasi Selenium (Se) dan Zinc (Zn) memiliki kandungan flavonoid sedikit lebih tinggi sebesar $2,72 \pm 0,09$ mg RE/g ekstrak (Gąsecka et al., 2016).

Biosintesis metabolit sekunder pada cendawan seperti flavonoid dapat dipengaruhi oleh komponen seperti media pertumbuhan dan kondisi pertumbuhan meliputi pH, kondisi pengocokan, suhu, lama inkubasi, dan ukuran inokulum yang diinokulasi (Thakur et al., 2009). Kondisi pertumbuhan yang digunakan yaitu inkubasi selama empat belas hari pada suhu ruang ($25-30$ °C) merupakan durasi optimum dalam pembentukan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid (Rebbapragada & Kalyanaraman, 2016). Kondisi pH pertumbuhan yang digunakan merupakan pH 6–7 juga mendukung permeabilitas dinding sel dan membran dalam menyerap media nutrisi (Yamanaka, 2003). Selain itu, rendemen ekstraksi yang tinggi pada *Xylaria* sp. strain D (Tabel 1) kemungkinan berhubungan terhadap kandungan ekstrak bioaktif yang lebih tinggi, di antaranya kandungan total flavonoidnya.

Hasil korelasi antara total kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan menunjukkan adanya korelasi positif sangat kuat (Gambar 1) yang menandakan bahwa total kandungan flavonoid seluruh sampel *Xylaria* sp. tidak memiliki kontribusi terhadap kemampuan aktivitas antioksidan. Hal ini senyawa flavonoid kemungkinan bukan sebagai senyawa antioksidan utama dari *Xylaria* sp.. Menurut Sereme et al. (2016) kadar total senyawa yang diukur tidak memiliki korelasi terhadap aktivitas antioksidan, mengindikasikan bahwa terdapat senyawa metabolit lain yang memiliki kemampuan aktivitas antioksidan. Hasil serupa juga ditemukan pada hasil penelitian Smith et al. (2015) kandungan flavonoid cendawan saprob *Monascus purpureus* tidak memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan, sedangkan senyawa fenol dan tanin memiliki kontribusi. Studi lainnya oleh Saeed et al. (2012) mengenai kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak *Torilis leptophylla* L. dan Li et al. (2018) mengenai kemampuan aktivitas antioksidan tumbuhan obat asal China, menunjukkan bahwa total kandungan flavonoid memiliki kontribusi lebih rendah dibanding senyawa fenol terhadap kemampuan aktivitas antioksidan. Berdasarkan laporan tersebut, dugaan golongan antioksidan yang dapat berkontribusi terhadap kemampuan antioksidan antara lain senyawa fenol dan tanin. Senyawa fenol dikenal memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan dengan mengurangi senyawa radikal bebas serta stres oksidatif (Kadum et al., 2019). Menurut Osono (2020) *Xylaria* sp. yang ditemukan pada serasah kayu memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti fenol, melanin, tanin, dan terpenoid. Selain itu, cendawan *Xylaria polymorpha* dikenal sebagai cendawan *dead man's fingers* dan berwarna hitam mengandung pigmen melanin dilaporkan memiliki senyawa antioksidan dan dapat mendegradasi stres oksidatif (Mattoon et al., 2021).

SIMPULAN DAN SARAN

Seluruh sampel strain *Xylaria* sp. saprob koleksi Laboratorium Mikologi, Departemen Biologi, IPB memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dan kandungan flavonoid yang rendah. *Xylaria* sp. strain F memiliki aktivitas antioksidan tertinggi sebesar $1915,14 \pm 24,73$ µg/mL dan *Xylaria* sp. strain D memiliki kandungan total flavonoid tertinggi sebesar $2,41 \pm 0,09$ mg QE/g ekstrak atau $0,008 \pm 0,0003$ mmol QE/g ekstrak. Senyawa flavonoid pada sampel *Xylaria* sp. tidak menjadi senyawa utama yang menunjukkan aktivitas antioksidannya. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk melihat karakteristik setiap senyawa antioksidan dan perhitungan aktivitas antioksidan jenis lainnya. Selain itu, optimasi produksi kandungan aktivitas antioksidan juga harus dilakukan dengan menggunakan beberapa macam media pertumbuhan dan pelarut ekstraksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB yang telah membantu selama pengumpulan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad., Herlyana, E. N., & Octaviani, E. A. (2013). Pengaruh pH, penggoyangan media, dan penambahan serbuk gergaji terhadap pertumbuhan jamur *Xylaria* sp. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 4(2), 57-61.
- Adnan, M., Patel, M., Reddy, M. N., & Alshammari, E. (2018). Formulation, evaluation and bioactive potential of *Xylaria primorskensis* terpenoid nanoparticles from its major compound xylaric acid. *Scientific Reports*, 8(1740), 1-10. doi: 10.1038/s41598-018-20237-z.
- Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A., & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(49), 1-31. doi: 10.1186/1477-7827-10-49.
- Agastian, P., Merlin, J. N., Nimal, C., & Praveen, K. P. (2013). Optimization of growth and bioactive metabolite production: *Fusarium solani*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(3), 98-103.
- Ahmed, F., & Iqbal, M. (2018). Antioxidant activity of *Ricinus Communis*. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 5(4), 107-112. doi: 10.19080/OMCIJ.2018.05.555667.
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-a concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547-553. doi: 10.1016/j.jsps.2015.03.013.
- Aytar, E. C., Akata, I., & Acik, L. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of *Armillaria mellea* and *Macrolepiota procera* extracts. *The Journal of Fungus*, 11(2), 121-128. doi: 10.30708.mantar.680496.
- Bahriul, P., Rahman, N., & Diah, A. W. M. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. *Jurnal Akademi Kimia*, 3(3), 143-149.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551-560. doi: 10.24843/JRMA.2019.v07.i04.p07.
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radicals chemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-93. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 1193-1199. doi: 10.1016/j.arabjc.2013.02.015.
- Divate, R. D., Wang, P. M., Wang, C. C., Chou, S. T., Chang, C. T., & Chung, Y. C. (2017). Protective effect of medicinal fungus *Xylaria nigripes* mycelia extracts against hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 30(1), 105-112. doi: 10.1177/0394632017695280.
- Djakaria, S. A., Batubara, I., & Raffiudin, R. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of selected Indonesian honey against bacteria of acne. *Journal of Scientific and Applied Chemistry*, 23(8), 267-275. doi: 10.14710/jksa.23.8.267-275.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2013). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879. doi: 10.1016/s0899-9007(02)00916-4.
- Fowler, J., Cohen, L., & Jarvis, P. (1998). *Practical statistics for field biology*. Chichester: John Wiley & Sons.
- Frantika, S. S. A., & Purnaningsih, T. (2016). Studi etnomikologi pemanfaatan jamur karamu (*Xylaria* sp.) sebagai obat tradisional suku Dayak Ngaju di desa Lamunti. *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*, 13(1), 633- 636.
- Gąsecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., Niedzielski, P. (2016). Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium

- and zinc. *European Food Research and Technology*, 242, 723–732. doi: 10.1007/s00217-015-2580-1.
- Gunasekaran, S., Sathiavelu, M., & Arunachalam, S. (2017). In vitro antioxidant and antibacterial activity of endophytic fungi isolated from *Mussaenda luteola*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(8), 234-238. doi: 10.7324/JAPS.2017.70832.
- González-Montelongo, R., Lobo, Gloria., & Gonzalez, Monica. (2010). The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts. *Separation and Purification Technology*, 71(3), 347-355. doi: 10.1016/j.seppur.2009.12.022.
- Hameed, A., Hussain, S. A., Yang, J., Ijaz, M. U., Liu, Q., Suleria, H., & Song, Y. (2017). Antioxidants potential of the filamentous fungi (*Mucor circinelloides*). *Nutrients*, 9(10), 1101. doi: 10.3390/nu9101101.
- Henriksen, E. J. (2019). Role of oxidative stress in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. In R. R. Watson, & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive food as dietary interventions for diabetes (second edition)* (pp. 3-17). Amsterdam: Academic Press.
- Kadum, H., Hamid, A. A., Abas, F., Ramli, N. S., Mohammed, A. K. S., Muhiyaldin, B. J., & Jaafar, A. H. (2019). Bioactive compounds responsible for antioxidant activity of different varieties of date (*Phoenix dactylifera* L.) elucidated by ¹H-NMR based metabolomics. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 462-476. doi: 10.1080/10942912.2019.1590396.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375. doi: 10.3390/molecules18022328.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidants properties of ferulic acid and it's related compound. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50(7), 2161-2168. doi: 10.1021/jf011348w.
- Kruk, J., & Duchnik, E. (2014). Oxidative stress and skin diseases: Possible role of physical activity. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention*, 15(2), 561-568. doi: 10.7314/APJCP.2014.15.2.561.
- Li, M., Pare, P. W., Zhang, J., Kang, T., Zhang, Z., Yang, D., ... Xing, H. (2018). Antioxidant capacity connection with phenolic and flavonoid content in Chinese medicinal herbs. *Records of Natural Products*, 12(3), 239-250.
- Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Xin, L., & Yan, G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, 105, 548-554. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.04.008.
- Liu, Z., Zhou, T., Ziegler, A. C., Dimitrion, P., & Zuo, L. (2017). Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. *Oxidative Medical Cell Longevity*, 2017, 2525967. doi: 10.1155/2017/2525967.
- Ma, Y. P., Mao, D. B., Geng, L. J., Zhang, W. Y., Wang, Z., & Xub, C. P. (2013). Production optimization, molecular characterization and biological activities of exopolysaccharides from *Xylaria nigripes*. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 27(2), 177-184.
- Matsuri, Alighiri, D., Nuzulina, K., Rodhiyah, M., & Drastisianti, A. (2019). Optimization of condition extraction in quantification of total flavonoid content in the seeds of the arummanis (*Mangifera indica* L.) mango from Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1321(2), 1-6. doi: 10.1088/1742-6596/1321/2/022041.
- Mathan, S., Subramanian, V., & Nagamony, S. (2013). Optimization and antimicrobial metabolite production from endophytic fungus *Aspergillus terreus* KC 582297. *European Journal Experiment Biology*, 3(4), 138-144.
- Mattoon, E. R., Cordero, R. J. B., & Casadevall, A. (2021). Fungal melanins and applications in healthcare, bioremediation and industry. *Journal of Fungi*, 7(6), 488. doi: 10.3390/jof7060488.
- Mihai, R. A., Heras, E. J. M., Florescu, L. I., & Catana, R. D. (2022). The edible gray oyster fungi *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm a potent waste consumer, a biofriendly

- species with antioxidant activity depending on the growth substrate. *Journal of Fungi*, 8(3), 274. doi: 10.3390/jof8030274.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanarin Journal of Science and Technology*, 6(3), 541-551.
- Monkai, J., Chukeatirote, E., Chamyuang, S., Synytsya, A., Ruml, T., & Hyde, K. D. (2013). Antimicrobial activity of some saprobic fungi isolated from *Magnolia liliifera* and *Cinnamomum iners* leaves. *Mycology*, 4(2), 82-84. doi: 10.1080/21501203.2013.801044.
- Osono, T. (2020). Decomposition of organic chemical components in wood by tropical *Xylaria* species. *Journal of fungi*, 6(4), 186. doi: 10.3390/jof6040186.
- Park, S., Lee, J. Y., Lim, W., You, S., & Song, G. (2019). Butylated hydroxyanisole exerts neurotoxic effects by promoting cytosolic calcium accumulation and endoplasmic reticulum stress in astrocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(34), 9615-9629. doi: 10.1021/acs.jafc.9b02899.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Ramesh, V., Santosh, K., Anand, T. D., Shanmugaiah, V., Kotamraju, S., Karunakaran, C., & Rajendran, A. (2015). Novel bioactive wild medicinal mushroom *Xylaria* sp. r006 (ascomycetes) against multidrug resistant human bacterial pathogens and human cancer cell lines. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(10), 1005-1017. doi: 10.1615/intjmedmushrooms.v17.i10.100.
- Rebbapragada, D., & Kalyanaraman, R. (2016). Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Xylaria feejeensis* HMJAU22039. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 269-273.
- Saeed, N., Khan, M. R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(221), 1-12. doi: 10.1186/1472-6882-12-221.
- Sarmah, R., Bhagabat, S. K., Dutta, R., Nath, D., Pokhrel, H., Mudoi, L. P., ... Kuotsu, K. (2020). Toxicity of a synthetic phenolic antioxidant, butyl hydroxytoluene (BHT), in vertebrate model zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Aquaculture Research*, 51(9), 3839-3846. doi: 10.1111/are.14732.
- Sereme, A., Dabire, C., Koala, M., Somda, M. K., & Traore, A. S. (2016). Influence of organic and mineral fertilizers on the antioxidants and total phenolic compounds level in tomato (*Solanum lycopersicum*) var. mongal F1. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4(4), 414-420. doi: 10.18006/2016.4(4).414.420.
- Smith, H., Doyle, S., & Murphy, R. (2015). Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chemical*, 185, 389-397. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.134.
- Sukkar, S. G., & Rossi, E. (2004). Oxidative stress and nutritional prevention in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity Reviews*, 3(3), 199-206. doi: 10.1016/j.autrev.2003.09.002.
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-80. doi: 10.3390/molecules14062167.
- Thakur, D., Bora, T. C., Bordoloi, G. N., & Maiumdar, S. (2009). Influence of nutrition and culturing conditions for optimum growth and antimicrobial metabolite production by *Streptomyces* sp.201. *Journal of Medical Mycology*, 19(3), 161-167. doi: 10.1016/j.mycmed.2009.04.001.
- Tvrda, E., Knazicka, Z., Bardos, L., Massanyi, P., & Lukac, N. (2011). Impact of oxidative stress on male fertility - a review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 59(4), 465-484. doi: 10.1556/AVet.2011.034.
- Utami, N. F., Nurdianty, S. M., Sutanto., & Suhendar, U. (2020). Pengaruh berbagai metode ekstraksi pada penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol daun iler (*Plectranthus*

- scutellarioides*). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76-83. doi: 10.33751/jf.v10i1.2069.
- Wang, L., Ding, J. Y., Song, H. C., Shen, K. Z., Wang, L. M., Sun, R., ... Zhang, K. Q. (2008). Screening and isolation of antibacterial activities of the fermentative extracts of freshwater fungi from Yunnan Province, China. *Annals of Microbiology*, 58, 579–584. doi: 10.1007/BF03175561.
- Wangsawat, N., Nahar, L., Sarker, S. D., Phosri, C., Evans, A. R., Whalley, A. J. S., ... Suwannasai, N. (2021). Antioxidant activity and cytotoxicity against cancer cell lines of the extract from novel *Xylaria* species associated with termite nests and LC-MS analysis. *Antioxidant*, 10(10), 1557. doi: 10.3390/antiox10101557.
- Yamanaka, T. (2003). The effect of pH on the growth of saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi in vitro. *Mycologia*, 95(4), 584-589. doi: 10.2307/3761934.
- Zeroual, A., Sakar, E. H., Mahjoubi, F., Chaouch, M., Chaqroune, A., & Taleb, M. (2021). Effects of extraction technique and solvent on phytochemicals, antioxidant, and antimicrobial activities of cultivated and wild rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Taounate region (Northern Morocco). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(6). 8441-8452. doi: 10.33263/BRIAC126.84418452.