

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER PADA JAMUR ENDOFIT DARI TUMBUHAN RARU (*Cotylelobium melanoxylon*)

IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLISM COMPOUNDS IN PLANT ENDOPHYTIC FUNGUS FROM RARU (*Cotylelobium melanoxylon*)

Eka Pratiwi^{1*}, Uswatun Hasanah², dan Idramsyah³

Universitas Negeri Medan, Medan^{1*}

Email: ekapratiwi21@gmail.com

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Jalan Willem Iskandar Psr.V,
Medan Estate, 20221. Telp. (061) 6625970
Universitas Negeri Medan, Medan^{2,3}

ABSTRACT

This research aim to identify the class of secondary metabolism produced by the endophytic fungi of raru plant (*Cotylelobium melanoxylon*). This research was conducted in the Biology Laboratory of Mathematics and Physicals Sciensis faculty, Medan State University for 7 months is from November 2013 to May 2014. Identification of secondary metabolism qualitative analysis performed using TLC (Thin Layer Chromatography) which can be seen from the resulting spot color patches. The results showed that the isolation of endophytic fungi from raru plant (*Cotylelobium melanoxylon*) obtained 38 isolates of endophytic fungi. The results of the selection test endophytic fungi against bacterial isolates obtained 6 endophytic fungi are able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, is RSI-4A, Rsi-4B, Rsi-2A, Rsi-10, Rsi-15, and Rsi-1B. Among the six isolates of the endophytic fungi, endophytic fungi isolates Rsi-10 has a diameter of inhibition zone is the most substantial 10,53 mm against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to 7,2 mm. Results of Thin Layer Chromatography (TLC) showed that endophytic fungi isolates positive Rsi-10 containing alkaloid compound (Rf=0,65 and 0,95) and flavonoid (Rf=0,96).

Keywords : Raru (*Cotylelobium melanoxylon*), Endophytic Fungus, Endophytic Fungus Extract, Secondary Metabolism, TLC (Thin Layer Chromatography)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofit pada tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylon*). Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan selama 7 bulan yaitu mulai bulan November 2013 sampai Mei 2014. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dilakukan secara analisis kualitatif dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang dapat dilihat dari spot warna bercak yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi terhadap jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylon*) diperoleh 38 isolat jamur endofit. Hasil seleksi jamur endofit terhadap bakteri uji diperoleh 6 isolat jamur endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, yaitu Rsi-4A, Rsi-4B, Rsi-2A, Rsi-10, Rsi-15, dan Rsi-1B. Di antara keenam isolat jamur endofit tersebut, isolat jamur endofit Rsi-10 memiliki diameter zona hambat yang paling besar yaitu 10,53 mm terhadap *Escherichia coli* dan 7,2 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa isolat jamur endofit Rsi-10 positif mengandung senyawa alkaloid (Rf=0,65 dan 0,95) dan flavonoid (Rf=0,96).

Kata Kunci : Raru (*Cotylelobium melanoxylon*), Jamur Endofit, Ekstrak Jamur Endofit, Metabolit Sekunder, KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

1. PENDAHULUAN

Resistensi terhadap mikroba menjadi salah satu masalah utama diseluruh dunia. Oleh karena itu diperlukan adanya penelitian untuk menemukan sumber senyawa bioaktif baru yang mampu mengatasi infeksi bakteri maupun jamur (14). Senyawa bioaktif dapat diperoleh dari beberapa sumber, diantaranya dari tumbuhan, hewan, mikroba dan organisme laut (18). Salah satu sumber senyawa bioaktif yang berasal dari mikroba adalah jamur endofit (22). Jamur endofit merupakan sumber yang kaya akan metabolit sekunder bioaktif (24) dan merupakan salah satu golongan mikroba endofit yang paling banyak ditemukan di alam (22).

Jamur ini hidup berasosiasi secara simbiosis mutualisme dengan tumbuhan inangnya (22). Jamur endofit menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu tanpa menimbulkan tanda-tanda adanya infeksi (3), kemudian menghasilkan enzim dan metabolit sekunder yang dapat bermanfaat bagi fisiologi dan ekologi tumbuhan inang (24), mikotoksin, dan juga antibiotik (4) yang dimanfaatkan tumbuhan inang untuk melawan penyakit yang ditimbulkan oleh patogen tumbuhan. Sebaliknya, jamur endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan inangnya (16).

Jamur endofit berperan penting dalam industri farmasi karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya yang mempunyai potensi besar sebagai senyawa bioaktif (24).

Senyawa bioaktif yang berasal dari jamur endofit ada yang berpotensi sebagai antimikroba (menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba-mikroba patogen) (5); antikanker (9), contohnya senyawa taksol (11); antiserangga (2); zat pengatur tumbuh (24); serta penghasil enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase (6), dan kitinase (27). Potensi biologis dari jamur endofit lainnya ialah sebagai antiimunopresif (10), anti-HIV, antioksidan (21), antivirus (8), antidiabetes (26), anti-HSV-1, antituberkular (1), dan antimalaria (12).

Namun penelitian terhadap isolat jamur endofit yang memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan *Cotylelobium melanoxyton* belum dilakukan, sehingga penelitian ini diharapkan dapat memperoleh senyawa metabolit sekunder dari jamur endofit yang berasal dari tumbuhan baru (*Cotylelobium melanoxyton*).

2. METODE PENELITIAN

ALAT DAN BAHAN

Dalam penelitian ini digunakan beberapa alat, antara lain cawan petri (Herma), gelas ukur (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gunting tanaman, pinset, magnetik stirer (BIOSAN MSH-300), Autoklaf (TOMY ES-315), laminar air flow (stream

line[®]), timbangan analitik (AND HR-200), inkubator, kamera (Canon), plat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel 60 F₂₅₄(Merck), penggaris, pensil, botol semprot, toples kaca, lampu bunsen, jarum ose, mikro pipet, pipa kapiler, oven, vortex, corong kaca, mangkok kaca, *cutton bud*.

Sebagai bahan penelitian digunakan batang tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*), kentang, dextrose, agar, nutrient agar, etanol 70 %, etanol 96 %, natrium hypochloride, metanol, n-butanol, asam asetat glasial 100%, etil asetat, dragendorff, amonia pekat (25%), kloroform, FeCl₃ 10%, asam formiat, antibakteri amoxicillin, aquades, aquades steril, kertas saring, kertas pembungkus, isolatip, alkohol 70 %, *tissue*, kertas label, aluminium foil, kapas, sabun pembersih.

3. PROSEDUR KERJA

Sterilisasi Permukaan Batang Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylo*)

- 1) Membersihkan sampel terlebih dahulu dengan menggunakan air suling yang mengalir untuk menghilangkan kotoran di bagian permukaan batang
- 2) Setelah itu sampel ditiriskan dan dibagi menjadi beberapa potongan-potongan yang berukuran lebih kecil
- 3) Potongan sampel tersebut kemudian direndam dalam larutan etanol 96% selama 1 menit
- 4) Lalu melanjutkan dengan perendaman dalam larutan natrium hypochloride selama 5 menit
- 5) Merendam kembali dengan larutan etanol 70 % selama 1 menit
- 6) Membakar sampel di atas api bunsen beberapa saat
- 7) Kemudian membilas kembali sampel tersebut dengan menggunakan aquadest steril sebanyak 2 kali dan hasil dari air bilasan tersebut diletakkan dalam cawan petri untuk dilakukan pengujian terhadap efektivitas sterilisasi permukaan dengan metode 3 kali pengulangan (19)

Isolasi Jamur Endofit

- 1) Setelah mensterilisasi permukaan, potongan sampel dikeringkan di atas kertas saring steril selama beberapa menit.
- 2) Kemudian meletakkan masing-masing potongan sampel pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) modifikasi, yaitu media PDA yang sebelumnya telah ditambahkan antibakteri amoxicillin, sambil sedikit ditekan, dengan posisi permukaan belahan sampel menempel pada media agar
- 3) Inokulasi sampel dilakukan di dalam laminar air flow, dan pada setiap cawan petri meletakkan 5 potongan sampel

- 4) Selanjutnya menginkubasi sampel selama 5-7 hari tergantung pada tingkat pertumbuhannya, pada suhu 27-29°C (suhu ruangan)
- 5) Setelah 7 hari memindahkan jamur endofit yang telah tumbuh ke dalam cawan petri yang berisi media PDA modifikasi baru dengan cara *distreak* menggunakan jarum ose
- 6) Selanjutnya menginkubasi kembali pada suhu ruang selama 5-7 hari, hal ini dilakukan secara berulang-ulang sampai diperoleh isolat murni dengan koloni yang seragam (15).

Seleksi Jamur Endofit Terhadap Bakteri Uji

- 1) Menyiapkan media NA (*Nutrient Agar*) yang telah beku di dalam cawan petri kemudian melewati *cutton bud* di atas api bunsen agar steril
- 2) Mengambil biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada tabung reaksi dengan menggunakan *cutton bud* tersebut
- 3) Kemudian kedua bakteri tersebut masing-masing dihapuskan (*diswab*) secara merata di atas permukaan media NA dan didiamkan selama 1 jam
- 4) Setelah 1 jam, cawan petri tersebut dibagi menjadi 4 kuadran.
- 5) Mengambil biakan jamur endofit dengan cara memotong jamur tersebut dengan bentuk kotak persegi menggunakan jarum ose
- 6) Pada kuadran I, letakkan jamur yang telah dipotong tersebut pada permukaan media NA yang telah didiamkan selama 1 jam. Kemudian memotong media NA tersebut sesuai dengan ukuran jamur endofit
- 7) Media NA yang telah dipotong tersebut dikeluarkan, lalu potongan jamur endofit dimasukkan ke dalam media NA yang telah dilubangi tersebut. Begitu seterusnya dilakukan hingga kuadran ke IV
- 8) Kemudian diinkubasi selama 1-2 hari hingga terlihat zona bening yang menandakan bahwa jamur endofit tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode 3 kali pengulangan (7,20).

Fermentasi Jamur Endofit

- 1) Jamur endofit yang memiliki daerah zona bening yang lebih besar atau memiliki daya antimikroba yang lebih tinggi diinokulasikan ke media PDA miring selama 7 hari
- 2) Setelah jamurnya tumbuh kemudian dipindahkan ke media MEA (*Malt Ekstrak Agar*) miring di dalam tabung reaksi selama 7 hari
- 3) Setelah itu, jamur tersebut dipindahkan ke media MEB (*Malt Ekstrak Broth*) di dalam tabung reaksi selama 7 hari
- 4) Setelah 7 hari, jamur endofit tersebut diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam erlenmeyer yang berisi media MEB sebanyak 40 ml.
- 5) Kemudian dilakukan kultur diam selama 30 hari (23)

Ekstraksi Media Fermentasi

- 1) Menimbang terlebih dahulu berat kertas saring kering
- 2) Melipat kertas saring kemudian meletakkannya di atas corong kaca
- 3) Mengambil biakan jamur endofit yang telah difermentasi selama 30 hari tersebut
- 4) Melakukan proses penyaringan terhadap biakan jamur endofit tersebut
- 5) Setelah selesai disaring, menimbang kertas saring basah yang masih terdapat adanya miselia jamur
- 6) Mengukur volume cairan hasil filtrasi
- 7) Kemudian membilas miselia jamur yang masih terdapat pada kertas saring dengan menggunakan larutan etanol dengan perbandingan 1:1, begitu juga dengan hasil cairan filtratnya dicampur dengan larutan etanol dengan perbandingan 1:1
- 8) Hasil cairan dari bilasan tersebut, beserta cairan filtrat yang telah dicampur dengan etanol dimasukkan ke dalam mangkok kaca secara terpisah
- 9) Selanjutnya dievaporasi (dilakukan proses penguapan) (13)

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Pembuatan cuplikan sampel

- 1) Larutkan bercak hasil dari ekstraksi yang telah kering dengan menggunakan pelarut yang sama pada saat proses ekstraksi
- 2) Uapkan larutan tersebut hingga diperoleh larutan yang cukup pekat (17).

Pembuatan larutan pengembang (Fase gerak)

- 1) Sediakan toples kaca beserta dengan cawan petri sebagai tutupnya
- 2) Kemudian masukkan larutan untuk fase gerak sesuai dengan perbandingannya masing-masing
- 3) Masukkan kertas saring ke dalam toples kaca yang telah berisi larutan fase gerak
- 4) Tutuplah toples kaca tersebut agar proses penjenuhan bisa homogen dan cepat (17).

Pembuatan kromatogram

- 1) Potong silika gel dengan ukuran 5 x 10 cm (cukup untuk 4 totolan), beri tanda dengan pensil batas atas dan batas bawah elusi (1 cm dari batas bawah dan 0,5 cm dari batas atas, tandai juga tempat penotolan sampel (jarak antar sampel 1 cm)
- 2) Di atas plat silika gel, totolkan larutan sampel yang akan dikromatografikan dengan pipa kapiler. Totolkan juga larutan ekstrak kulit kayu sebagai pembanding. Biarkan beberapa saat hingga kering

- 3) Masukkan plat silika gel ke dalam toples kaca dengan posisi lapisan yang mengandung cuplikan berada pada bagian bawah (dicelupkan dalam fase gerak), jaga agar noda jangan tercelup dalam fase gerak dan toples kaca ditutup kembali. Tunggulah beberapa saat sampai eluen bergerak mencapai batas atas
- 4) Keluarkan plat silika gel dari toples kaca dan keringkan dengan oven
- 5) Untuk mengetahui lokasi noda (bila noda tidak kelihatan), semprotkan larutan penampak bercak pada plat silika gel
- 6) Panaskan plat silika gel beberapa saat untuk mempercepat penampakan noda
- 7) Tentukan harga R_f dari noda-noda yang tampak dan bandingkan dengan R_f standardnya (17).

Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

- 1) Fase gerak yang digunakan adalah Etil asetat-metanol-air (6:4:2)
- 2) Penampak bercak digunakan pereaksi Dragendorff
- 3) Untuk melihat adanya alkaloid dengan munculnya bercak warna jingga atau coklat (25)

Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid

- 1) Fase gerak yang digunakan adalah Butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5)
- 2) Penampak bercak digunakan Uap amonia
- 3) Untuk melihat adanya flavonoid dengan munculnya bercak warna kuning atau kuning coklat (25)

Identifikasi Senyawa Golongan Polifenol

- 1) Fase gerak yang digunakan adalah Kloroform-etil asetat-asam formiat (0,5:9:0,5)
- 2) Penampak bercak digunakan FeCl_3 10%
- 3) Untuk melihat adanya polifenol dengan munculnya bercak warna hitam (25).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

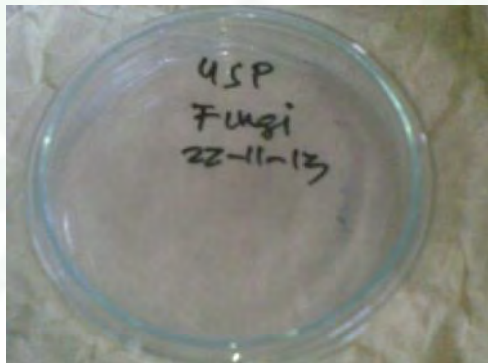
Uji Media Kontrol Dan Sterilisasi Permukaan Batang Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylon*)

Hasil uji media kontrol dan sterilisasi permukaan batang dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylon*) memperlihatkan bahwa tidak terdapat adanya kontaminasi pada kedua uji tersebut. Hasil uji media kontrol disajikan pada gambar di bawah ini.



Gambar 1. Hasil Uji Media Kontrol

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa media kontrol terlihat bersih tanpa kontaminasi. Hasil uji sterilisasi permukaan batang tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*) disajikan pada gambar di bawah ini.



Gambar 2. Hasil Uji Sterilisasi Permukaan Batang Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxyton*)

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa permukaan batang tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*) tidak menunjukkan adanya kontaminasi setelah dilakukan sterilisasi.

Seleksi Jamur Endofit Terhadap Bakteri Uji

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar isolat jamur endofit yang diperoleh dari batang tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Hal ini ditunjukkan dengan pembentukan zona hambat dengan diameter yang cukup besar, baik pada koloni bakteri *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*.

Hasil isolasi dari batang tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*) diperoleh total 38 isolat jamur endofit yang beragam, namun diantaranya hanya 6 isolat jamur endofit yang mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Diameter zona hambat dari 6 isolat jamur endofit terhadap bakteri uji disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Yang Disebabkan Oleh Isolat Jamur Endofit

Isolat	Diameter Zona Hambat							
	Terhadap <i>Escherichia coli</i> (mm)				Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)			
	Ulangan			Rata-rata	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3		1	2	3	
Rsi - 4A	10,1	10,3	10,4	10,26	0,9	10,4	10	7,1
Rsi - 4B	10,4	10,1	0,8	7,1	10,2	10	0,7	6,96
Rsi - 2A	0,9	0,9	10	3,93	0,8	0,9	10	3,9
Rsi - 10	10,8	10,4	10,4	10,53	0,9	10,1	10,6	7,2
Rsi - 15	10,8	0,8	10,4	7,33	10,5	0,7	10,2	7,13
Rsi - 1B	0,8	10,3	10,8	7,3	0,9	10	10,2	7,03

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa keenam isolat jamur endofit tersebut memiliki kestabilan di dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan rata-rata diameter zona hambatnya terhadap bakteri *Escherichia coli*, jamur endofit Rsi-10 memiliki diameter zona hambat yang paling besar yaitu 10,53 mm, sedangkan jamur endofit yang memiliki diameter zona hambat yang paling kecil yaitu Rsi-2A dengan diameter sebesar 3,93 mm. Berdasarkan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, jamur endofit Rsi-10 memiliki diameter zona hambat yang paling besar yaitu 7,2 mm sedangkan jamur endofit Rsi-2A memiliki diameter zona hambat yang paling kecil yaitu sebesar 3,9 mm.

Fermentasi Dan Ekstraksi Jamur Endofit

Pada penelitian ini proses fermentasi dilakukan pada jamur endofit terpilih yaitu isolat Rsi-10 secara kultur diam selama 30 hari. Pada hari terakhir proses fermentasi, jamur endofit terpilih (Rsi-10) telah tumbuh di atas permukaan media MEB (*Malt Ekstrak Broth*). Kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Hasil dari proses ekstraksi terhadap jamur endofit terpilih (Rsi-10) dengan menggunakan pelarut etanol berupa bercak yang berwarna kehitaman.

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Terhadap ekstrak isolat jamur endofit Rsi-10 dilakukan identifikasi metabolit sekunder untuk senyawa alkaloid, flavonoid dan polifenol dengan metode KLT

(Kromatografi Lapis Tipis). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofit terpilih (Rsi-10) disajikan pada table di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Isolat Jamur Rsi-10

No	Jenis Identifikasi	Jenis Sampel	Harga Rf	Warna noda pada kromatogram	
				Sebelum	(+) Pereaksi Dragendorff, Uap amoniak dan FeCl ₃ 10%
1.	Alkaloid	Biomassa	0,95	Coklat	Coklat
		Filtrat	-	-	-
		Kulit kayu	0,65	Coklat	Coklat
2.	Flavonoid	Biomassa	0,96	Kuning coklat	Kuning coklat
		Filtrat	0,50	Coklat	Coklat
		Kulit kayu	0,62	Coklat	Coklat
3.	Polifenol	Biomassa	-	Kuning	-
		Filtrat	-	-	-
		Kulit kayu	0,76	Coklat	Hitam

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa isolat jamur endofit terpilih (Rsi-10) mengandung kelompok senyawa metabolit sekunder alkaloid yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna coklat pada saat sebelum maupun sesudah disemprot dengan pereaksi kimia dragendorff dengan nilai Rf sebesar 0,65 dan 0,95. Isolat jamur endofit terpilih (Rsi-10) juga mengandung kelompok senyawa metabolit sekunder flavonoid yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna kuning coklat pada saat sebelum maupun sesudah disemprot dengan pereaksi kimia uap amoniak dengan nilai Rf sebesar 0,96. Isolat jamur endofit terpilih (Rsi-10) tidak mengandung kelompok senyawa metabolit sekunder polifenol dikarenakan noda yang dihasilkan berwarna kuning sebelum disemprot dengan pereaksi kimia FeCl₃ 10% dan setelah disemprot dengan pereaksi kimia FeCl₃ 10% terlihat tidak adanya noda yang dihasilkan.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan uji analisis kualitatif dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), isolat jamur endofit Rsi-10 mengandung kelompok senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna coklat (Rf=0,65 dan 0,95) dan flavonoid yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna kuning coklat (Rf=0,96).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Agusta A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. Bandung : ITB Press.
- [2] Azevedo JL, Maccheroni W, Pereira JO, Luiz W. 2000. Endophytic Microorganism: A Review On Insect Control and Recent Advances On Tropical Plants. *Electr J Biotechnol* 3 : 40 - 65.
- [3] Bacon CW, White JF. 2000. *Microbial Endophytes*. New York : Marcel Dekker.
- [4] Carrol GC. 1988. Fungal Endophytes In Stem and Leaves From Latent Pathogens To Mutualistic Symbiont. *Ecology* 69 : 2 - 9.
- [5] Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, Hess WM, Potter H, Jenson JB, Albert H, Robinson R, Condrón MA, Teplow DB. 2002. Munumbicins, Wide Spectrum Antibiotics Produced By *Streptomyces* NRRL 30562, Endophytic On *Kennedia nigricans*. *Microbiology* 148 : 2675 - 2685.
- [6] Choi YW, Hodgkiss IJ, dan Hyde KD. 2005. Enzyme Production By Endophytes Of *Brucea javanica*. *J Agric Tech* 1 : 55 - 65.
- [7] Desriani AM, Lestari Y. 2004. Screening Of *Streptomyces* spp. Producing - Laktamase Inhibitory Protein. *Hayati* 11 : 88 - 92.
- [8] Guo B, Dai J, N.g S, Huang Y, Leong C, Ong W, Carte BK. 2000. Cytonic Acid A & B: Novel Tridepside Inhibitors Of hCMV Protease From The Endophytic Fungus *Cytonaema* Species. *J. Nat. Prod.* 63 : 602 - 604.
- [9] Kumala S. 2005. *Isolasi dan Penapisan Mikroba Endofit Tanaman Brucea javanica (L) Merr Serta Uji Sitotoksik Metabolit Sekunder Terhadap Beberapa Sel Kanker Secara In Vitro*, Jakarta : Disertasi Program Pasca sarjana Universitas Indonesia.
- [10] Lee J, Lobkovsky E, Pliam NB, Strobel GA, Clardy J. 1995. Subglutinols A and B; immunosuppressive Compounds From The Endophytic Fungus *Fusarium subglutinans*. *J Org Chem* 60 : 7076 - 7077.
- [11] Li J, Strobel GA, Sidhu R, Hess WM, Ford EJ. 1996. Endophytic Taxol Producing Fungi From Bald Cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology* 142 : 2223 - 2226.
- [12] Lu H, Zou WX, Meng JC, Hu J, Tan RX. 2000. New Bioactive Metabolites Produced By *Colletotrium* sp., An Endophytic Fungus In *Artemisia annua*. *Plant Sci* 151 : 76 - 73.
- [13] Melliawati R, Sukiman HI, Widyaningrum DN, Djohan AC. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas* 7 (3) : 221 – 224.
- [14] Nirjanta Nameirakpam. 2012. Antimicrobial Properties Of Endophytic Fungi Isolated From Medicinal Plant *Camellia Sinesis*. *International Journal Of Pharma and Bio Science* 3 (3) : 420 - 427.



- [15] Noverita, Dinah Fitria, Ernawati Sinaga. 2009. Isolasi Dari Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun dan Rimpang Zingiber *ottensii* val. *Jurnal Farmasi Indonesia* 4 (4) : 171 - 176.
- [16] Petrini OTN, Sieber LT, Viret O. 1992. Ecology Metabolite Production and Substrate Utilization In Endophytic Fungi. *Nat Toxin* 1 : 189 - 196.
- [17] Pratiwi Rarastoeti. 2011. *Biokimia Analitik*. Yogyakarta : Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- [18] Prihatiningtias W. 2005. *Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Akar kuning (Fibraurea chloroleuca Miers) Sebagai Senyawa Antimikroba*. Tesis Sekolah Pascasarjana UGM.
- [19] Radu S, Kqueen CY. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi From Medicinal Plants In Malaysia For Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences* 9 (2) : 23 - 33.
- [20] Strobel GA, Dirkse E, Sears J, Markworth C. 2001. Volatile Antimicrobials From *Muscudor albus* A Novel Endophytic Fungus. *Journal Microbiology* 147 : 2943 - 2950.
- [21] Strobel GA, Ford E, Woapong J, Harper JK, Arif AM, Grant DM, Fung PCW, Chan K. 2002. Isopestacin, An Isobenzopuranone From *Pestalotiopsis Microspora*, Possesing Antifungal and Antioxidant Activities. *Phytochemistry* 60 : 179 - 183.
- [22] Strobel GA. 2003. Endophytes as sources of bioactive products, pp.11.
- [23] Sutjaritvorakul T, Whalley AJS, Sihanonth P, Roengsumran S. 2010. Antimicrobial activity from endophytic fungi isolated from plant leaves in Dipterocarpos forest at Viengsa district Nan province, Thailand. *Journal of Agricultural Technology* 6 (2) : 309-315.
- [24] Tan RX, Zou WX. 2001. Endophytes : A Rich Source Of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep* 18 : 488 - 459.
- [25] Wagner H, Bland S. 1996. *Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas 2nd Edition*. Berlin Heidelberg: Springer.
- [26] Zhang B, Salituro G, Szalkowski D, Li Z, Zhang Y, Royo I, Vilella D, Dez M, Pelaez F, Ruby C. 1999. Discovery Of Small Molecule Insulin Mimetic With Antidiabetic Activity In Mice. *Science* 284 : 974 -981.
- [27] Zinniel DK, Lambrecht P, Haris NB, Feng Z, Kuczarski D, Higley P, Ishimaru CA, Arunakumari A, Barletta RG, Vidader AK. 2002. Isolation and Characterization Of Endophytic Colonizing Bacteria From Agronomics Crops and Prairie Plants. *Appl Environ Microbiol* 68 : 2198 - 2208.