

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIFUNGI ISOLAT CENDAWAN ENDOFIT DARI TUMBUHAN SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L.)

Elis Sakhiroh Rohmawati, Israwati Harahap
Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau.
relis39@yahoo.com

Abstrak— Sebanyak 10 isolat cendawan endofit telah diisolasi dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dan memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* dengan kategori kuat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa antifungi yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit dari tumbuhan senduduk. Isolat RO 10 positif menghasilkan terpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid dan saponin. Pada ekstrak isolat cendawan endofit dilakukan pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen kloroform:benzena:etanol 96% dan dihasilkan 2 bercak pada isolat 3, 8, 10, 16, 18, dan 1 bercak pada isolat 14, 19, 21, 22, 23 sedangkan pemisahan senyawa dengan eluen N heksan:etil asetat (1:9) menghasilkan bercak hampir pada semua isolat.

Kata kunci: *Isolat cendawan endofit, senyawa antifungi, KLT.*

I. PENDAHULUAN

Infeksi merupakan masalah besar yang menyedot perhatian dunia. Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) menyebutkan bahwa penyakit infeksi merupakan penyebab kematian terbesar di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia^[1]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia menyatakan bahwa kematian akibat penyakit infeksi dan parasit menempati urutan kedua setelah penyakit sistemik sirkulasi darah pada tahun 2008. Pola hidup yang kurang sehat dan didukung iklim tropis dengan kelembaban udara tinggi di Indonesia sangat mendukung pertumbuhan cendawan. Cendawan banyak menimbulkan berbagai penyakit infeksi. Salah satu contohnya adalah *Candida albicans*, yang merupakan flora normal rongga mulut, usus besar dan vagina. Dalam kondisi tertentu, *C. albicans* dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan^{[2],[3]}. Kematian karena infeksi cendawan selain penyakit kulit yang sangat tinggi juga dikarenakan diagnosis yang terlambat atau belum tersedia antibiotik nontoksik yang secara medis dapat digunakan. Sehingga penyakit tersebut menjalar dan bertambah parah^[4]. Untuk mencegah atau mengendalikan penyakit infeksi adalah mengeliminasi mikroba dengan pemberian antibiotik. Terapi pilihan dan dosis antifungi yang diberikan tergantung dari kondisi kesehatan pasien, penyakit yang diderita dan telah terbukti sebagai antifungi yang efektif^[5]. Namun, untuk mendesain antifungi yang efektif itu tidak mudah. Hal itu dikarenakan fungi adalah organisme eukariot yang memiliki membran sel cendawan yang mengandung sterol. Sterol merupakan komponen penting dalam mempertahankan hidup cendawan. Agen antifungi tidak hanya membunuh cendawan tetapi juga merugikan jaringan manusia. Antifungi yang ideal harus menargetkan jalur atau proses tertentu untuk sel cendawan, sehingga mengurangi kemungkinan merusak jaringan^[6]. Seiring perkembangan zaman, penyakit infeksi dapat ditanggulangi menggunakan antifungi baru yang berasal dari metabolit sekunder cendawan endofit.

Isolat cendawan endofit telah berhasil diisolasi dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)^[7]. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diperoleh 10 isolat cendawan endofit yang berpotensi menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan zona hambat sebesar 15-18 mm.)^[8]. Zona hambat dengan ukuran 15-18 mm termasuk dalam kategori kuat^[9]. Besarnya zona hambat yang dihasilkan oleh cendawan endofit dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*, mengindikasikan bahwa isolat cendawan endofit tersebut memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan senyawa antifungi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengkarakterisasi senyawa antifungi yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Penelitian ini bertujuan untuk

mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa antifungi yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum L.*).

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Laminar Air Flow (LAF), oven, inkubator, autoklaf, timbangan analitik, hot plat, bunsen, erlenmeyer, tabung reaksi, beaker glass, cawan petri, batang pengaduk, spatula, ose, pipet tetes, plat tetes, rak tabung, kapas, tisu, kertas pembungkus, label, pelat KLT, Botol kaca, botol plastik. Bahan yang digunakan adalah media MEA (*Malt Extract Agar*), PDB (*Potato Dextrose Broth*), kloramfenikol, aquades, etanol, alkohol 70%, spritus, kloroform, pereaksi dragendorff dan pereaksi mayer, pereaksi Lieberman-Burchard, larutan besi (III) klorida ($FeCl_3$), logam magnesium, etil asetat, N heksan, benzena.

B. Prosedur Penelitian

a. Sumber Isolat

Isolat RO cendawan endofit diperoleh dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Octavianti (2016). Cendawan endofit tersebut diisolasi dari tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) yang berpotensi sebagai antifungi.

b. Pembuatan Media

Sebanyak 7,2 gram media MEA (*Malt Extract Agar*) dilarutkan dengan aquades 150 ml dalam erlenmeyer. Larutan dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hot plate. Media MEA kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama ± 15 menit pada tekanan 1,5 atm. Media dituang ke cawan petri steril.

Sebanyak gram media PDB dilarutkan dengan aquades 150 ml dalam erlenmeyer. Media PDB dihomogenisasi dan dipanaskan menggunakan hot plate. Media PDB kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama ± 15 menit pada tekanan 1,5 atm.

c. Persiapan Isolat Cendawan Endofit

Sebanyak 10 isolat cendawan endofit dari penelitian sebelumnya di tumbuhkan atau di remajakan pada media MEA (*Malt Extract Agar*) pada masing-masing cawan petri steril. Inokulasi isolat cendawan endofit dengan metode streak menggunakan jarum ose steril. Semua isolat di tumbuhkan selama 7 hari.

d. Fermentasi Cendawan Endofit

Isolat cendawan yang sudah diremajakan selama ± 7 hari pada media MEA pada cawan petri, masing-masing diambil menggunakan sedotan steril sebanyak 3 cuplikan. Isolat difermentasi untuk mendapatkan metabolit sekunder dalam media PDB sebanyak 20 ml dalam erlenmeyer. Medium berisi isolat cendawan endofit difermentasikan selama ± 21 hari^[9]. Proses fermentasi cendawan endofit menggunakan media cair karena fermentasi dengan media cair lebih efektif untuk memproduksi biomassa dan memproduksi senyawa bioaktif dibandingkan fermentasi dalam media padat^[10].

e. Karakterisasi Senyawa Antifungi Cendawan Endofit

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder cendawan endofit yang memiliki aktivitas antifungi pada penelitian sebelumnya dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalamnya, meliputi uji terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik, dan saponin^[11].

f. Uji terpenoid/steroid

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder dari isolat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampur kloroform beramoniak kemudian ditambahkan H₂SO₄ 2 N ke dalam tabung dan dikocok kuat. Campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform (bawah). Lapisan kloroform diletakkan di plat tetes dan dibiarkan menguap lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Burchard). Apabila terbentuk warna hijau-biru menandakan adanya senyawa steroid dan warna merah menandakan adanya senyawa terpenoid.

g. Uji alkaloid

Lapisan asam diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Hasil dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga setelah penambahan pereaksi Dragendorff dan warna putih setelah penambahan pereaksi Mayer.

h. Uji fenolik

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder dari isolat diletakkan di atas plat tetes dan ditambahkan larutan besi (III) klorida (FeCl₃). Hasil positif dinyatakan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi biru-hitam.

i. Uji flavonoid

Ekstrak kasar fermentasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan alkohol 70% dan dipanaskan. Campuran ditambahkan lempeng logam magnesium dan setetes asam klorida pekat. Hasil positif mengandung flavonoid bila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda.

j. Uji saponin

Akuades ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak kasar fermentasi dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian larutan dikocok kuat dan apabila terbentuk busa yang stabil selama ±10 menit maka sampel dinyatakan mengandung saponin.

k. Pemisahan Senyawa Antifungi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan golongan senyawa antifungi dari ekstrak senyawa cendawan endofit dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebanyak 10 isolat cendawan endofit dipisahkan senyawanya dalam etil asetat. Kromatografi senyawa antifungi menggunakan KLT pelat silika gel 60F2564 sebagai fase diam berdasarkan Listiandini^[12]. Pelat KLT dipotong berukuran panjang 10 cm dan lebar 1 cm. Bagian bawah pelat ditandai dengan jarak 1 cm untuk batas bawah dan 1 cm untuk batas atas menggunakan pensil.

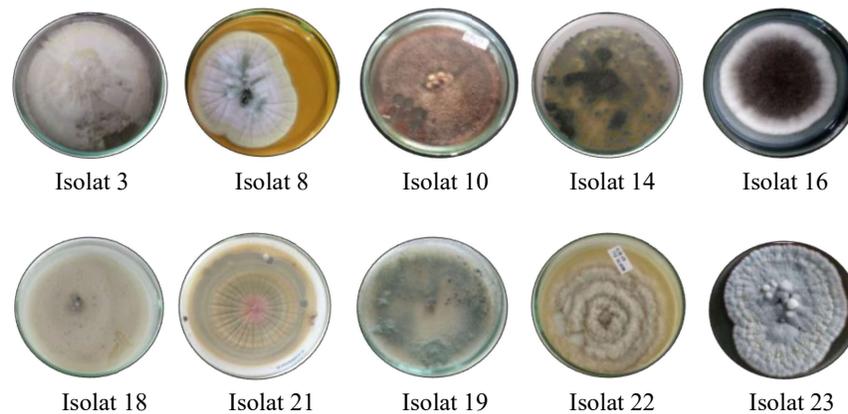
Ekstrak fermentasi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antifungi ditotolkan pada setiap titik menggunakan pipa kapiler. Fase gerak dengan perbandingan eluen kloroform:benzena:etanol 96%=45:45:10 dan eluen N heksan : etil asetat = 1:9^[13]. Setiap pelat kemudian dimasukkan ke dalam bejana KLT berisi eluen selama beberapa menit hingga eluen mencapai batas atas, kemudian dikeringkan dan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 365 nm. Pola bercak pada pelat diamati dan digambar, nilai R_f (retention factor) dihitung dengan rumus^[14]:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Peremajaan isolat RO cendawan endofit

Sebanyak 10 isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi^[7] dari tumbuhan senduduk dan memiliki aktivitas antifungi diremajakan (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat cendawan endofit yang telah diremajakan

B. Fermentasi isolat RO cendawan endofit

Sebanyak 10 isolat RO cendawan endofit yang telah diremajakan pada media MEA baru selanjutnya difermentasikan dalam media PDB (*Potato Dextrose Broth*) (Gambar 2). Proses fermentasi cendawan endofit menggunakan media cair karena fermentasi dengan media cair lebih efektif untuk memproduksi biomassa dan memproduksi senyawa bioaktif dibandingkan fermentasi dalam media padat.

C. Uji senyawa antifungi isolat cendawan endofit

Tabel 1. Uji senyawa antifungi isolat cendawan endofit

Uji Senyawa Antifungi	Isolat Cendawan Endofit										Reaksi Positif
	RO 3	RO 8	RO 10	RO 14	RO 16	RO 18	RO 19	RO 21	RO 22	RO 23	
Terpenoid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Perubahan warna merah
Steroid	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Hijau-biru
Alkaloid											
a. Dragendorff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Jingga
b. Mayer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Putih susu
Fenolik	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Biru-hitam
Flavonoid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Merah muda
Sponin	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	Terbentuk busa stabil ± 10 menit

Keterangan: “+” = terdeteksi, “-“ = tidak terdeteksi

a. Uji terpenoid/steroid

Reaksi positif dari uji terpenoid dan steroid dengan penambahan pereaksi Liebermen Burchard yaitu dengan terbentuknya warna merah untuk terpenoid dan hijau biru untuk steroid (Elita, 2013). Uji golongan senyawa terpenoid dan steroid pada ekstrak kasar cendawan endofit tumbuhan senduduk menunjukkan hasil negatif dengan terbentuknya warna putih bening pada isolat RO 3, RO 8, RO 16, RO 18, RO 19, RO 22, RO 21, warna kuning bening pada isolat RO 14 dan isolat RO 23 setelah penambahan pereaksi Liebermen burchard. Hasil positif terpenoid ditunjukkan pada isolat RO 10 dengan terbentuknya warna merah setelah penambahan reagen Liebermen burchard.

b. Uji alkaloid

Identifikasi senyawa golongan alkaloid pada ekstrak kasar fermentasi menunjukkan hasil negatif pada isolat RO 14 dengan terbentuknya warna bening dengan endapan jingga dan hasil positif

ditunjukkan pada isolat RO 3, RO 8, RO 10, RO 16, RO 18, RO 19, RO 21, RO 22, RO 23 dengan penambahan pereaksi Dragendorff berwarna jingga dan warna putih susu setelah penambahan pereaksi Mayer

c. *Uji fenolik*

Identifikasi senyawa golongan fenolik pada ekstrak kasar fermentasi menunjukkan hasil negatif dengan warna coklat pada isolat RO 8, RO 23, warna kuning pada isolat RO 14, RO 18, RO 19, RO 22 warna kuning tua, pada isolat RO 16 dan RO. Hasil positif ditunjukkan pada isolat RO 3 dan Isolasi RO 10 dengan warna biru kehitaman setelah penambahan larutan besi (III) klorida. Hasil uji fenolik ditunjukkan pada perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau pada ekstrak sampel^[11].

d. *Uji flavonoid*

Identifikasi senyawa golongan flavonoid pada ekstrak kasar fermentasi menunjukkan hasil negatif dengan warna kuning pada isolat RO 8, warna kuning pudar pada isolat RO 3, RO 14, RO 21, warna hijau pada isolat RO 23, warna bening sedikit keruh pada isolat RO 16, warna bening pada isolat RO 18, RO 19, RO 22. Hasil positif ditunjukkan dengan warna merah muda pada isolat RO 10 setelah ditambahkan etanol 70% dipanaskan dan ditambahkan logam magnesium (mg) dan setetes asam klorida pekat (HCL).

e. *Uji saponin*

Hasil positif pada uji saponin ditunjukkan pada isolat RO 3, RO 10, RO 14, RO 16, RO 18, RO 19, RO 21, RO 23. Hasil negatif ditunjukkan pada isolat RO 8 dan RO 22 dengan tidak terbentuknya busa stabil selama ± 10 menit setelah ditambahkan akuades, dipanaskan dan dikocok kuat.

Ekstrak tumbuhan daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) mengandung senyawa aktif yaitu alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Senyawa yang berperan sebagai antifungi antara lain alkaloid, saponin, flavonoid dan steroid^[15].

Senyawa antifungi mempunyai berbagai mekanisme penghambatan terhadap sel jamur. Senyawa antifungi memiliki mekanisme kerja dengan cara menetralkan enzim yang terkait dalam invasi dan kolonisasi jamur, merusak membran sel jamur, menghambat sistem enzim sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein^[16].

Alkaloid adalah zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat. Secara umum tumbuhan yang mengandung senyawa alkaloid, secara fisik dapat diidentifikasi dengan ciri-ciri jelas, misalnya bergetah dan terasa pahit jika dicicipi^[17]. Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba, yaitu menghambat esterase dan juga DNA dan RNA polimerase, juga menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA^[15].

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein^[18]. Senyawa fenol yang terdapat pada flavonoid dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga menyebabkan lisisnya dinding sel jamur, pertumbuhan sel jamur terganggu bahkan dapat mengalami kematian^[19].

Saponin merupakan golongan senyawa yang dapat menghambat atau membunuh cendawan patogen dengan cara menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat cairan intraseluler yang lebih pekat tertarik keluar sel sehingga nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, protein dalam sel keluar cendawan patogen mengalami kematian^[20].

Pemisahan Senyawa Antifungi Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan larutan pengembang kloroform:benzena:etanol 96% (45:45:10)

Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen kloroform:benzena:etanol 96% pada ekstrak isolat dilakukan pengukuran dan dihasilkan 2 bercak pada isolat 3, 8, 10, 16, 18 dan 1 bercak pada isolat 14, 19, 21, 22, dan 23.

Tabel 2. Pemisahan Senyawa Antifungi dengan kloroform:benzena:etanol 96% (45:45:10)

No.	Jenis Isolat	Rf (UV 254)	Bercak
1	Isolat 3	0,34	2
		0,24	
2	Isolat 8	0,32	2
		0,1	
3	Isolat 10	0,3	2
		0,18	
4	Isolat 14	0,28	1
5	Isolat 16	0,1	2
		0,18	
6	Isolat 18	0,2	2
		0,26	
7	Isolat 19	0,06	1
8	Isolat 21	0,08	1
9	Isolat 22	0,1	1
10	Isolat 23	0,12	1

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan larutan pengembang N heksan:etil asetat (1:9)

Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen N heksan:etil asetat (1:9) pada ekstrak isolat dilakukan pengukuran dan dihasilkan bercak pada isolat 3, 8, 10, 14, 16, 18, 19, 22, dan 23. Sedangkan isolat 21 tidak menghasilkan bercak pada pelat KLT dengan nilai Rf (Tabel 3.).

Tabel 3. Pemisahan Senyawa Antifungi Dengan Eluen N heksan:etil asetat (1:9)

No	Jenis isolat	Rf (UV 254)	Bercak
1	Isolat 3	0,22	1
2	Isolat 8	0,2	2
		0,7	
3	Isolat 10	0,22	1
4	Isolat 14	0,075	2
		0,052	
5	Isolat 16	0,075	3
		0,017	
		0,675	
6	Isolat 18	0,075	3
		0,225	
7	Isolat 19	0,525	2
		0,2	
8	Isolat 21	-	-
9	Isolat 22	0,075	2
10	Isolat 23	0,125	1
		0,5	

Berdasarkan tabel terdapat beberapa bercak yang dihasilkan oleh senyawa antifungi dari cendawan endofit. Adanya bercak tersebut menandakan bahwa senyawa antifungi mengandung beberapa senyawa. Seperti isolat 3 dalam KLT terdapat 2 bercak berarti ada 2 senyawa yang terkandung dalam cendawan endofit. Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2-0,8. Jika terlalu tinggi harus dilakukan adalah menggunakan kepolaran eluen dan sebaliknya^[21].

IV. SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai karakterisasi senyawa antifungi yang terdapat dalam isolat RO cendawan endofit dapat diambil kesimpulan bahwa beberapa isolat memiliki senyawa yang sama dengan tumbuhan aslinya. Senyawa antifungi tersebut yang teridentifikasi dalam isolat cendawan endofit berupa steroid, terpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin.

Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen kloroform:benzena:etanol 96% pada ekstrak isolat dilakukan pengukuran dan dihasilkan 2 bercak pada isolat 3, 8, 10, 16, 18 dan 1 bercak pada isolat 14, 19, 21, 22, 23. Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen N heksan:etil asetat (1:9) pada ekstrak isolat dilakukan pengukuran dan dihasilkan bercak pada isolat 3, 8, 10, 14, 16, 18, 19, 22, dan 23. Sedangkan isolat 21 tidak menghasilkan bercak pada pelat KLT.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pemisahan senyawa murni dari isolat cendawan endofit yang berpotensi sebagai antifungi.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Ristekdikti tahun 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Salmi, et al. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM nya, *Jurnal Penelitian Sains*. Vol.14 no.1.
- [2] Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001, Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- [3] Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- [4] Pelczar, M. J dan Chan E.C.S. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Terjemahan dari *Elements of Microbiology*, oleh Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- [5] Groll, A. H. & Kolve, H., 2004, Antifungal Agents: *In Vitro Susceptibility Testing*. *Pharmacodynamics, and Prospects for Combination Therapy*, *Europe Journal Microbiology Infection Disease*, 23, 256-270.
- [6] Kavanagh, K. & Sullivan, D., 2004, Fungi, dalam Denyer, S. T., Hodges, N. A., & Gorman, S. P., Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology, Seventh Edition, Blackwell Publishing Company, UK.
- [7] Octavianti, Rusi. 2016. Isolasi Cendawan Endofit dari Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dan Potensinya Sebagai Antifungi. *Laporan PKM-P tahun 2016*. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Muhammadiyah Riau. Pekanbaru.
- [8] Davis and Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal of Microbiology*. Vol. 22, No. 4.
- [9] Zakiyah, A., Radiastuti, N., dan Sumarlin, O.L., 2015. Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd.). *Jurnal Biologi*. Vol. 8 No.2, 51-58.
- [10] Pokhrel, C.P & Ohga, S. 2007. Submerged Culture Conditions for Mycelial Yield and Polysaccharides Production by *Lyophyllum decastes*. *Food Chemistry*. 105, 641-646.
- [11] Elita A., Saryono S., Christine J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *J. Ind.Che.Acta*. Vol. 3, No.2, Hal. 56-62.
- [12] Listiandini, Kirana. 2011. Identifikasi Kapang Endofit ES1, ES2, ES3, dan ES4 dari *Brossounetia papyrifera* Vent. dan Pengujian Aktivitas Antimikroba. *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Depok.
- [13] Asriani, D. 2010. Isolasi dari Xantorizol dari Temulawak Terpilih Berdasarkan Nomor Harapan. *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [14] Sherma, J. & B. Fried. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- [15] Gholib, D. 2009. Uji Daya Hambat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Candida albicans*. *Berita Biologi*. 9 (5): 523-532.
- [16] Djunaedy, A. 2008. Aplikasi Fungsida Sistemik dan Pemanfaatan Mikoriza dalam Rangka Pengendalian Patogen Tular Tanah pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.). *Embryo*. 5 (2): 149-157.
- [17] Mustanir, Hendra, F., Nurhaida, dan Nurdin, S. 2013. Antifungal Ekstrak N-Heksana Tumbuhan Obat di Aceh terhadap *Candida albicans*. *J. Ind. Soc. Integ. Chem*. 5 (2): 7-14.
- [18] Wahyuningtyas, E. 2008. Pengaruh Ekstrak *Graptophyllum pictum* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Plat Gigi Tiruan Resin Akrilik. *Indonesian Journal of Dentistry*, 15 (3):187- 191.
- [19] Cowan, M. M., 1999, *Plant Product as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*. Volume 12, No. 4, 564-582. Hardiningtyas, S. D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp. yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [20] Gandjar, Ibnu Gholib dan Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.