

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI DAUN GALING-GALING (*Cayratia trifolia* L)

(*Determination Of Antibacterial Activities Endophytic Fungi Isolate From Leaves Galing-Galing (Cayratia trifolia L)*)

Ayyub Harly Nurung^{1*}, Fitriana¹, Herwin¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email: ayyub.harlynurung@umi.ac.id

Article Info:

Received: 2022-01-15

Review: 2022-03-15

Accepted: 2022-07-02

Available Online: 2022-07-02

Keywords:

Antibacterial activity; *Cayratia trifolia* L; Endophytic fungi; Minimum inhibitory concentration..

Corresponding Author:

Ayyub Harly Nurung
Program Studi Sarjana Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Muslim Indonesia
Makassar
Indonesia
email:
ayyub.harlynurung@umi.ac.id

ABSTRACT

*Utilization of wild plants around us needs to be done to expand the chances of wild plants being used as traditional medicine. These plants have the main content of the active compounds in the form of steroids, terpenoids, flavonoids, tannins and is reported to have antibacterial activity. This research aims to determine the concentration of endophytic fungi isolates IDGG 02, IDGG 03 and IDGG 06 from the leaves of galing-galing (*Cayratia trifolia* L). The first stage purification isolates of endophytic fungi in order to obtain single isolates. Then fermented using a shaker for 21 days at room temperature. Fermented extracted with ethyl acetate solvent using a liquid-liquid extraction methods to obtain a dry extract. Testing the minimum inhibitory concentration (MIC) with concentrations of 2048, 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 and 4 µg / mL and testing for antibacterial activity using agar diffusion methods against bacteria *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. The results obtained MIC 2048 MIC ug / mL to extract isolates IDGG 02 and IDGG 06, while the extract obtained 03 isolates IDGG 1024 MIC ug / ml against all bacteria. Results of testing the antibacterial activity of endophytic fungi isolated extract IDGG 02, 03 IDGG produce diameter zone of inhibition at a concentration of 2048 mg / mL against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*.*



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Published by:

Fakultas Farmasi
Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

jurnal.farmasi@umi.ac.id

ABSTRAK

Pemanfaatan tumbuhan liar di sekitar kita perlu dilakukan untuk memperluas peluang tumbuhan liar dijadikan sebagai pengobatan tradisional. Tumbuhan ini memiliki kandungan utama senyawa aktif berupa steroid, terpenoid, flavonoid, tannin dan dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 dari daun galing-galing (*Cayratia trifolia* L). Tahap pertama pemurnian isolat fungi endofit sehingga diperoleh isolat tunggal. Kemudian difermentasi menggunakan shaker selama 21 hari pada suhu kamar. Hasil fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat menggunakan metode ekstraksi cair-cair hingga diperoleh ekstrak kering. Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan konsentrasi 2048, 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 dan 4 µg/mL dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*. Hasil pengujian KHM diperoleh nilai KHM 2048 µg/mL untuk ekstrak isolat IDGG 02 dan IDGG 06, sedangkan ekstrak isolat IDGG 03 diperoleh nilai KHM 1024 µg/mL terhadap semua bakteri. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 menghasilkan diameter zona hambatan pada konsentrasi 2048 µg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri; *Cayratia trifolia* L; Fungi endofit; Konsentrasi hambat minimum.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan liar di sekitar kita perlu dilakukan untuk memperluas peluang tumbuhan liar dijadikan sebagai pengobatan tradisional. Tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan tradisional mengandung berbagai macam zat yang bisa digunakan untuk mengobati penyakit kronis dan menular. Tanaman dengan prinsip bioaktif kuat dianggap sebagai komponen tumbuhan obat. Konstituen alami berbasis tanaman berasal dari bagian tanaman seperti daun, kulit kayu, akar, buah, biji, dan lain-lain.¹

Salah satu sumber senyawa bioaktif yang saat ini menjadi populer adalah yang berasal dari mikroba. Salah satu mikroba penghasil senyawa bioaktif adalah fungi endofit yang merupakan jamur yang tumbuh dan mengkolonisasi di jaringan tumbuhan (inang) terutama di bagian akar, batang dan daun. Fungi endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini di duga karena fungi endofit mengalami koevolusi transfer genetik dari inangnya. Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif

merupakan hal yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal. Hal ini karena mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi.²

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba endofit dapat berupa senyawa bioaktif salah satunya adalah senyawa antibakteri yang dapat menghambat ataupun membunuh mikroorganisme penyebab penyakit infeksi. Saat ini, pemberian antibakteri merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit infeksi. Namun penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol dapat mendorong terjadinya perkembangan resistensi terhadap antibakteri yang diberikan.³ Adanya resistensi ini dapat menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi tersebut. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai sumber penghasil senyawa antibakteri dapat

diperoleh dari isolat fungi endofit yang terdapat dalam jaringan daun galing-galing (*Cayratia trifolia* L). Tumbuhan ini memiliki kandungan utama senyawa aktif berupa steroid, terpenoid, flavonoid, tannin dan dilaporkan memiliki aktivitas antivirus, antibakteri, antiprotozoa, hipoglikemik, antikanker, dan diuretik.⁴

Ekstrak dari daun galing-galing telah diuji memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Micrococcus luteus*.⁵ Selain itu, hasil penelitian yang telah dilakukan Fitriana, Abdullah A, Almagfirah A yaitu profil bioautogram ekstrak fermentat isolat fungi endofit dari daun galing-galing (*Cayratia trifolia* L) sebagai antibakteri, diperoleh 3 isolat fungi endofit dengan IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 yang memberikan aktivitas sebagai antibakteri.⁶

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap isolat fungi endofit dari daun galing-galing (*Cayratia trifolia* L) yaitu penentuan aktivitas antibakteri dengan melihat konsentrasi dari ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 dengan menggunakan metode difusi agar.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat gelas, Bunsen, cawan Petri, cawan penguap, corong pisah, Disk Blank, inkubator, jangka sorong, *laminary air flow*, lemari pendingin, mikropipet dan tip, otoklaf, oven, *rotary vaporator*, *microplate* 96 sumur, *shaker*, spektrofotometri UV-VIS, timbangan analitik. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest, bakteri uji (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*), DMSO (Dimetil sulfoksida), isolat Fungi endofit kode IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06, medium

Yeast Pepton Dextrosa Agar (YPDA), medium Maltosa Yeast Broth (MYB), medium MHB (Muller Hinton Broth) dan medium MHA (Muller Hinton Agar), medium Nutrien Agar (NA), pelarut etil asetat.

Prosedur Kerja

Pemurnian dan Maroskopik Isolat Fungi Endofit

Media yang digunakan untuk pemurnian isolat fungi endofit dari daun galling-galing IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 yaitu media YPD agar. Pemurnian dilakukan dengan cara pemindahan masing-masing isolat jamur ke media YPD agar yang baru. Kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu kamar. Pemurnian dilakukan sampai diperoleh isolat jamur murni yang tunggal dan dilakukan analisis secara makroskopik untuk membedakan strain isolat fungi yang murni.⁷

Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Media YPD agar yang bagian permukaannya ditumbuhi isolat fungi endofit murni secara merata dipotong 1,5 cm x 1,5 cm dengan Ose bulat lalu dimasukkan kedalam Erlenmeyer 500 mL yang berisi 250 mL media cair MYB (Maltosa Yeast Broth) steril untuk fermentasi. Masing-masing isolat fungi endofit difermentasi menggunakan 6 labu Erlenmeyer (@ 250 mL). Fermentasi secara dinamis menggunakan *shaker* dengan kecepatan 200 rpm selama tiga minggu pada suhu kamar.⁷

Ekstraksi

Setelah tiga minggu hasil fermentasi yang berupa supernatan isolat fungi endofit dengan IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06, diekstraksi dengan ekstraksi cair-cair sebanyak 3 kali dengan 400 mL etil asetat. Pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* lalu dimasukkan ke dalam cawan penguap yang sudah ditara, sampai diperoleh ekstrak kering.⁷

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Tiap sumur pada 96 *microplate* diisi dengan 100 μ L media MHB, sumur ke 1 (kontrol sterilitas) diisi dengan 100 μ L MHB; sumur ke 2 (kontrol bakteri) diisi dengan 100 μ g/mL MHB dengan suspensi bakteri sebanyak 1 ose. 200 μ L ekstrak etil asetat fungi endofit dengan konsentrasi 4096 μ g/mL ditambahkan pada sumur ke 12 dan dilakukan pengenceran 2-serial dengan cara memindahkan 100 μ L hingga sumur ke 3. Konsentrasi tertinggi ekstrak uji 2048 μ g/mL dan terendah 4 μ g/mL mikroplate diinkubasi pada 37 °C selama 16-18 jam. Konsentrasi hambat minimum ditentukan dengan mengamati kekeruhan setelah inkubasi.⁸

Pengujian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Terhadap Bakteri Uji

Metode pengujian aktivitas antibiotika yang umum digunakan adalah dengan menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan medium MHA (*Muller Hinton Agar*). Medium MHA diambil sebanyak 15 ml dan ditambahkan dengan 20 μ L suspensi bakteri uji *Escherichia coli*, lalu dimasukkan kedalam cawan petri. *Disk blank* diletakkan diatas medium yang telah memadat, kemudian sampel ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02 yang telah dilarutkan dengan DMSO yang telah dibuatkan variasi konsentrasi dimasukkan menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ L. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri, lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk. Hal yang sama dilakukan untuk bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai penentuan aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit dari daun galing-galing (*Cayratia trifolia L*) telah dilakukan dengan tujuan untuk menentukan konsentrasi dari ekstrak isolat fungi endofit dari daun galing-galing (*Cayratia trifolia L*) yang memiliki aktivitas terhadap bakteri uji.

Isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06, sebelum dilakukan pengujian lanjutan, terlebih dahulu dilakukan pemurnian dengan menggunakan metode tanam, yaitu isolat fungi endofit diinokulasikan ke media yeast pepton dektrosa agar (YPDA) yang baru untuk memperoleh isolat fungi endofit yang tunggal atau koloni tunggal yang murni dan sesuai dengan karakteristiknya secara makroskopik pada penelitian sebelumnya.⁶

Isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 yang telah murni, kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi dengan menggunakan medium maltosa yeast broth (MYB) . Fermentasi isolat dilakukan dengan menggunakan shaker kecepatan 200 rpm agar pada saat fermentasi dihasilkan pelet berukuran kecil dan padat. Pelet berukuran kecil merupakan bentuk yang ideal karena luas permukaan kontak akan semakin besar dan metabolit yang dihasilkan akan maksimum.⁹ Fermentasi dilakukan selama 21 hari karena pada hari ke 21 tersebut telah memasuki fase stationer dan telah menghasilkan metabolit-metabolit sekunder. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar karena produksi metabolit antimikroba akan meningkat pada peningkatan temperatur dari 20-25 °C. Namun, pada peningkatan suhu 25-35 °C produksi metabolit antimikroba akan berkurang.¹⁰

Setelah di fermentasi diperoleh hasil berupa supernatan dari isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi senyawa metabolit dengan tujuan untuk memecah sel sehingga senyawa metabolit berdifusi ke pelarut.¹¹ Supernatan isolat fungi endofit di ekstraksi dengan pelarut etil asetat menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat.¹²

Ekstrak etil asetat isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03 dan IDGG 06 yang telah diperoleh kemudian dilanjutkan dengan

pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pengujian konsentrasi hambat minimum menggunakan variasi konsentrasi dari yang tertinggi hingga terendah yaitu 2048, 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 dan 4 µg/mL yang diujikan terhadap bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*. Pengujian konsentrasi hambat minimum dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02, IDGG 03, IDGG 06 dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji

No	Sampel	Bakteri uji	Replikasi	Hasil															
				KM	KN	KP	Konsentrasi Sampel (ppm)												
							4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048			
1	IDGG 2	EC	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+		
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		SA	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		SE	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		VC	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		2	IDGG 3	EC	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
					r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
SA	r1			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
	r2			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
SE	r1			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
	r2			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
VC	r1			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+		
	r2			-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+		
3	IDGG 6			EC	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
					r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SA	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		SE	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		VC	r1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			r2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	

Keterangan: **(EC):** *Escherichia coli*; **(SA):** *Staphylococcus aureus*; **(SE):** *Staphylococcus epidermidis*; **(VC):** *Vibrio cholerae*; **(KM):** Kontrol medium; **(KN):** Kontrol negatif; **(KP):** Kontrol Positif.

Hasil pengujian KHM menunjukkan pada ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02 dan IDGG 06 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio Cholerae* menunjukkan nilai KHM pada konsentrasi 2048 µg/ml. Sedangkan hasil

pengujian pada ekstrak isolat fungi endofit IDGG 03 terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio Cholerae* menunjukkan nilai KHM pada konsentrasi 1024 µg/ml. Hasil pengujian berbeda-beda karena sifat bakteri satu dengan

yang lainnya berbeda. Setelah diperoleh nilai KHM dilanjutkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil pengujian aktivitas ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02 memberikan aktivitas pada konsentrasi 2048 µg/ml dengan diameter zona hambatan sebesar 8,32 mm terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, diameter zona hambatan sebesar 8, 23 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, diameter zona hambatan sebesar 7,22 terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan diameter zona hambatan sebesar 9,08 mm terhadap *Escherichia coli*.

Hasil pengujian aktivitas ekstrak isolat fungi endofit IDGG 03 memberikan aktivitas pada konsentrasi 2048 µg/ml dengan diameter

zona hambatan sebesar 8,32 mm terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, diameter zona hambatan sebesar 8, 23 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, diameter zona hambatan sebesar 7,22 terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan diameter zona hambatan sebesar 9,08 mm terhadap *Escherichia coli*.

Sedangkan hasil pengujian ekstrak isolat fungi endofit IDGG 06 tidak memberikan aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio Cholerae*. Hasil pengujian yang berbeda dapat disebabkan karena kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda-beda bergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya.

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit terhadap bakteri uji

No.	Sampel	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambatan (mm)													
			KM	KN	KP	Konsentrasi Sampel (ppm)										
						4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	
1	IDGG 2	EC	6	6	28,46	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	8,32
		SA	6	6	25,51	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	8,23
		SE	6	6	23,74	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7,22
		VC	6	6	24,78	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	9,08
2	IDGG 3	EC	6	6	26,09	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7,73
		SA	6	6	23,01	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7,69
		SE	6	6	25,2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7,44
		VC	6	6	24,72	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7,65
3	IDGG 6	EC	6	6	24,72	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		SA	6	6	25,57	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		SE	6	6	25,78	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		VC	6	6	26,37	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Keterangan: **(EC):** *Escherichia coli*; **(SA):** *Staphylococcus aureus*; **(SE):** *Staphylococcus epidermidis*; **(VC):** *Vibrio cholerae*; **(KM):** Kontrol medium; **(KN):** Kontrol negatif; **(KP):** Kontrol Positif.

KESIMPULAN

Ekstrak isolat fungi endofit IDGG 02 dan IDGG 06 memberikan aktivitas sebagai antibakteri dengan nilai KHM pada konsentrasi 2048 µg/ml sedangkan untuk ekstrak isolat fungi endofit IDGG 03 memberikan aktivitas

sebagai antibakteri dengan nilai KHM pada konsentrasi 1024 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya (LP2S) Universitas Muslim Indonesia sebagai

pendana dalam penelitian ini dan terima kasih kepada pihak fakultas farmasi UMI serta laboratorium fakultas farmasi UMI atas kesediaannya sebagai tempat penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sowmya S et al. Comparative Preliminary Phytochemical Analysis Various Different Parts (Stem, Leaf and Fruit) of *Cayratia trifolia* (L.). *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2015; 5(1):218–223
2. Hasiani VV, Ahmad I, Rijai L. Isolasi Jamur Endofit Dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia Inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2015; 1(4):146–153.
3. Wardani AK. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2007.
4. Kumar D et al. Pharmacognostic Evaluation of *Cayratia trifolia* (Linn.) Leaf. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012; 2(1):6–10.
5. Cruz CP, Alcantara JC, Cruz JP. Antibacterial Property of *Cayratia trifolia* L. as an Alternative Treatment for Boils. *Research Journal of Science & IT Management*. 2014; 3(12):9–12.
6. Fitriana F, Abdullah AA, Achmar AA. Profil Bioautogram Ekstrak Fermentat Isolat Fungi Endofit Dari Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L) Sebagai Antibakteri. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2019; 11(1):17–23.
7. Kjer J, Debbab A, Aly AH, Proksch P. Methods for Isolation of Marine-Derived Endophytic Fungi and Their Bioactive Secondary Products. *Nature Protocols*. 2010; 5(3):479–490.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 31st ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020.
9. Ibrahim D, Weloosamy H, Lim S-H. Effect of Agitation Speed on the Morphology of *Aspergillus niger* HFD5A-1 Hyphae and Its Pectinase Production in Submerged Fermentation. *World J Biol Chem*. 2015; 6(3):265–271.
10. Jain P, Pundir R. Effect of Fermentation Medium, PH and Temperature Variations on Antibacterial Soil Fungal Metabolite Production. *Journal of Agricultural Technology*. 2011; 7(2):247–269.
11. Mawaddah R. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami Dan Aplikasinya Dalam Bahan Pangan Di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB (Skripsi). Jakarta: Institut Pertanian Bogor. 2008.
12. Oktaviary R. Isolasi Dan Skrining Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Lingkungan Laut (Skripsi). Bandung : Institut Teknologi Bandung. 2014