

KARAKTERISASI MAKROSKOPIK DAN MIKROSKOPIK SERTA ISOLASI DNA ISOLAT FUNGI ENDOFIT DAUN EKOR NAGA (*Rhaphidophora pinnata* L.F Schott)

(*Macroscopic and Microscopic Characterization and DNA Isolation of Endophytic Fungi from Dragon Tail (*Rhaphidophora pinnata* L.F Schott) Leaves*)

St. Maryam¹, Siska Nuryanti², Kartini Eka Fakhriyanti Rahbuddin^{2*}

¹Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: kartinieka07@gmail.com

Article Info:

Received: 2022-09-16

Review: 2022-10-21

Accepted: 2022-11-17

Available Online: 2022-12-01

Keywords:

DNA band; Dragon tail leaves; Electrophoresis; Endophytic fungi; Identification; Isolation.

Corresponding Author:

Kartini Eka Fakhriyanti
Rahbuddin

Laboratorium Mikrobiologi
Farmasi

Fakultas Farmasi
Universitas Muslim Indonesia

Makassar

Indonesia

email: kartinieka07@gmail.com

ABSTRACT

*Endophyte fungi generally produce secondary metabolites which have biological activities such as anticancer, antiviral, or antibacterial compounds. The endophytic fungi isolate of FM 2 code is one of the endophytic fungi samples of dragon tail leaf (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) because it has the best activities. The research aimed to isolate DNA samples of the dragon-tail leaves and to identify the endophytic fungi isolates through macroscopic and microscopic observations. The significance of DNA isolation can be found through electrophoresis, which will show DNA band under the UV light. The results showed that the sample the endophytic fungi isolates on FM 2 code was identified conventionally by observing its morphological characters through macroscopic and microscopic identification compared to literature, showing the similarities to the genus *Mucor* sp. which will show DNA band under the UV light. The results showed that the sample of endophytic fungi was isolated by a transilluminator UV lamp indicating that the sample was successfully isolated.*



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

Fungi endofit umumnya memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat seperti misalnya senyawa-senyawa antikanker, antivirus, atau antibakteri. Sampel isolat fungi endofit dengan kode FM 2 merupakan salah satu sampel fungi endofit dari daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) yang memiliki aktivitas paling baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi DNA pada sampel isolat fungi endofit daun ekor naga dan mengidentifikasi isolat fungi endofit secara makroskopik dan mikroskopik. Keberhasilan isolasi DNA dapat diketahui melalui elektroforesis yang akan memperlihatkan pita DNA dibawah sinar UV. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel isolat fungi endofit daun ekor naga dengan kode FM 2 yang dilakukan identifikasi secara konvensional yaitu dengan mengamati karakter morfologi secara makroskopik dan mikroskopik yang dibandingkan dengan literature menunjukkan kemiripan dengan genus *Mucor* sp. dan pada hasil isolasi DNA menunjukkan bahwa terlihat pita DNA yang diamati dibawa lampu UV transluminator yang menandakan sampel isolat fungi endofit berhasil diisolasi.

Kata kunci: Daun ekor naga; Elektroforesis; Identifikasi; Isolasi; Jamur endofit; Pita DNA.

PENDAHULUAN

Tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional memiliki berbagai kandungan yang bermacam-macam yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit kronis dan menular. Tanaman dengan potensi bioaktif kuat dianggap sebagai komponen tumbuhan obat. Bagian tanaman dengan konstituen alami berbasis tanaman berasal dari seperti daun, kulit kayu, akar, buah, biji, dan lain-lain.¹ Fungi endofit adalah salah satu agen pengendali hayati yang ditemukan pada tumbuhan terutama tanaman obat, sehingga dapat digunakan sebagai sumber isolat fungi endofit.²

Fungi endofit adalah kelompok jamur yang sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan hidup dan biasanya tidak merugikan inangnya. Fungi endofit memiliki metabolit sekunder yang bermanfaat seperti misalnya senyawa-senyawa antikanker, antivirus, atau antibakteri.² Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, dan satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan

pada satu spesies dalam satu kingdom. Senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan biasanya tersebar merata keseluruh bagian tumbuhan tetapi dalam kadar yang berbeda-beda. Senyawa metabolit sekunder pada tanaman biasa dijumpai pada akar, batang, biji, dan buah.³

Banyak jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat, salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat adalah *Rhaphidophora pinnata* (L.f) Schott. yang dikenal dengan nama daun ekor naga. Secara empiris, ekstrak daun ekor naga digunakan sebagai obat batuk, obat rheumatoid arthritis, antibakteri dan antikanker. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa seperti triterpenoid atau steroid, alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin terdapat pada daun ekor naga.⁴

Identifikasi fungi endofit dapat dilakukan secara konvensional atau mikrobiologis maupun molekuler. Identifikasi dengan cara konvensional mengkaji mengenai karakteristik morfologi dan biokimiawi dari fungi tersebut.⁵ Tahap awal identifikasi molekuler yaitu dengan melakukan isolasi DNA. isolasi DNA adalah mengeluarkan dan mendapatkan DNA dari sel. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA dengan cara merusak komponen sel tanpa

merusak DNA.⁶ Isolasi DNA merupakan tahapan pekerjaan awal yang harus dilakukan dalam berbagai pekerjaan analisis DNA. Keberhasilan proses isolasi DNA seringkali sangat menentukan hasil pekerjaan selanjutnya. Dalam proses isolasi DNA, kualitas DNA yang dihasilkan akan sangat tergantung dari kondisi materi tanaman yang di pergunakan.⁷

Proses penghancuran sel dilakukan secara kimiawi dengan menggunakan berbagai bahan kimia seperti EDTA dan SDS. Sedangkan untuk penghancuran protein biasanya digunakan enzim Proteinase-K. Pemisahan kotoran akibat lisis sel dilakukan dengan sentrifugasi. Molekul nukleotida yang telah dipisahkan selanjutnya dibersihkan dari protein dengan menggunakan senyawa phenol. Chloroform juga dipergunakan untuk membersihkan sisa polisakarida dan protein yang berada dalam larutan. Pemurnian DNA dari kontaminasi RNA dapat dilaksanakan dengan menggunakan enzim RNA-sel.⁸

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah Alat-alat gelas, autoklaf (SMIC Model YX- 280 B), botol coklat, cawan petri (Normax), gelas erlenmeyer 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), gelas kimia 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), inkubator(Memmert), gelas ukur 100 mL, lampu spiritus, *laminar air flow* (LAF), lemari pendingin, mikropipet, mikroskop (Olympus), shaker, spoit, ose bulat, strirer, sentrifuge, tabung effendorf, timbangan analitik (Chyo), waterbach. Bahan-bahan yang digunakan yaitu aquadest, alfol, *ethidium bromida*, *ethylene diamine tetra acid (EDTA)*ph 8, kit Geneaid PrestoTM, enzim Proteinase K, Etanol absolut, fenol, gel agarosa, *lactofenol*, medium Potato

Dekstroza Agar (PDA), kloroform, *sodium chloride* (NaCl), *Proteinase K*, RNase, sampel isolat fungi endofitdaun ekor naga dengan kode sampel FM 2, *sodium dosesil sulfat* (SDS), Tris-HCl pH 8.

Prosedur kerja Sampel

Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dicuci hingga bersih dengan air suling, kemudian alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat yang berskala dan tidak tahan terhadap pemanasan dan yang terbuat dari plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada lampuspritus.⁹

Pemurnian sampel isolat fungi endofit dari daun ekor naga (*Rhaphidohora pinnata* (L.f) Schott)

Pemurnian fungi endofit bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan mengamati perbedaan morfologi koloni. Pemurnian sampel dilakukan dengan cara mengambil miselium jamur yang tumbuh dengan menggunakan kawat ose steril, selanjutnya bagian dari jamur tersebut dipindahkan kembali ke media PDA steril.¹⁰

Identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik Isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidohora pinnata* (L.f) Schott)

Identifikasi fungi endofit secara makroskopik. Hasil pemurnian yang didapatkan kemudian dilakukan identifikasi secara makroskopik yang meliputi permukaan koloni, bentuk koloni, tepi, dan sudut elevasinya.¹⁰

Identifikasi fungi endofit secara mikroskopik. Objek gelas dan kaca penutup dengan alcohol 70%, kemudian ditetaskan beberapa tetes larutan *lactofenol* diatas

permukaan objek gelas tersebut. Diambil koloni biakan dengan jarum inokulasi, diletakkan dalam tetesan *lactofenol* dan diuraikandengan jarum. Ditutup dengan kaca penutup sedemikian rupa sehingga tidak terdapat gelembung udara dalam preparat. Dibersihkan laktofenol dengan kertas hisap. Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100-400 kali. Identifikasi secara mikroskopis yang meliputi adaditadnya septa pada hifa (bersekat atau tidak bersekat), pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak bercabang), warna hifa dan konidia (gelap atau hialin).¹⁰

Mengisolasi pita DNA isolat fungi endofit dari Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) dengan elektroforesis¹¹

Ekstraksi. Bagian miselia pada jamur diambil sebanyak 25 mg dan di potong- potong kecil, ditempatkan dalam tabung effendorf 1,5 mL lalu ditambahkan 180 µL Buffer ATL (*Tissue Lysis Buffer*). Ditambahkan *Proteinase K* 20 µL dihancurkan dengan cara divorteks selama 4 menit agar campuran merata. Inkubasi dalam waterbach pada suhu 60°C selama 1 jam setiap 15 menit diangkat dan dibolak balik sehingga terjadi optimalisasi kerja buffer lisis ekstra. Setelah itu sampel disentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm, untuk memisahkan substansi berdasarkan bobot jenis. Dari hasil sentrifuge supernatan dipindahkan kedalam tabung effendorf 2 mL dan ditambahkan fenol dingin 1:1. Kemudian disentrifuge selama 13000 rpm selama 10 menit sehingga terbentuk 2 fase dan bagian endapan dibuang. Supernatan yang didapatkan selanjutnya dipindahkan kedalam tabung effendorf 2 mL dan ditambahkan kloroform dingin 1:1 untuk menghilangkan kontaminasi yang masih tersisah. Kemudian di stirrer lambat selama 15

menit dan disentrifuge dengan kecepatan 13000 rpm selama 10 menit sehingga terbentuk 2 fase. Dari supernatan yang telah didapatkan dipindahkan kembali ke tabung effendorf yang baru dengan ukuran 1,5 mL. Berikutnya dilakukan penambahan etanol absolut dan dibolak balikkan yang berfungsi untuk mengumpulkan DNA. Selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 13000 rpm selama 15 menit dan akan terbentuk 2 fase. Pada tahap ini bagian supernatannya akan dibuang. Dari endapan yang tersisa ditambahkan 0,5 mL etanol 70%. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 13000 selama 2 jam dan supernatan dibuang. Selanjutnya ditambahkan 40 dapar TE dan disimpan pada suhu 4°C selama semalam. DNA yang telah disimpan kemudian ditambahkan 3 Ribonuklease (RNase) dan diinkubasi dalam waterbath pada suhu 37°C selama 1 jam. DNA yang didapatkan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu -20°C.

Elektroforesis. Sebanyak 1 gram gel agarose dan dilarutkan dalam 100 mL buffer TEA ke dalam Erlenmeyer, dipanaskan dalam microwave selama 2 menit hingga mendidih. Cairan gel dituang dalam *container* pencetakan agarose hingga memadat. Dimasukkan 5 µL produk PCR masing-masing sampel dimasukkan kedalam sumur pada agarose yang terendam dalam tangki yang berisi TEA buffer. Proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 100-volt selama 30 menit. Selanjutnya diamati dibawah sinar ultraviolet. Gel agarose dan TEA ini mengandung ethidium bromide akan berdifusi kedalam gel dan berasosiasi dengan DNA diantara pasang basa nukleotida sehingga hasil elektroforesis pada saat disinari dengan sinar UV maka fragmen-fragmen DNA yang telah terpisah sebagai band-band akan berwarna orange.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan tanaman inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba, salahsatunya fungi endofit yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam fungi endofit.¹²

Penelitian ini menggunakan sampel isolat daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f) Schott.). Diketahui bahwa daunekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f) Schott.) berkhasiat sebagai obat. Dimana hasil dari skirining fitokimia menunjukkan adanya senyawa seperti triterpenoid/steroid, alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Yang mana secara empiris, ekstrak daun ekor naga digunakan sebagai obat batuk, obat rheumatoid arthritis, antibakteri dan antikanker.⁴ Penelitian ini diawali dengan dilakukannya pemurnian sampel isolat fungi endofit daun ekor naga

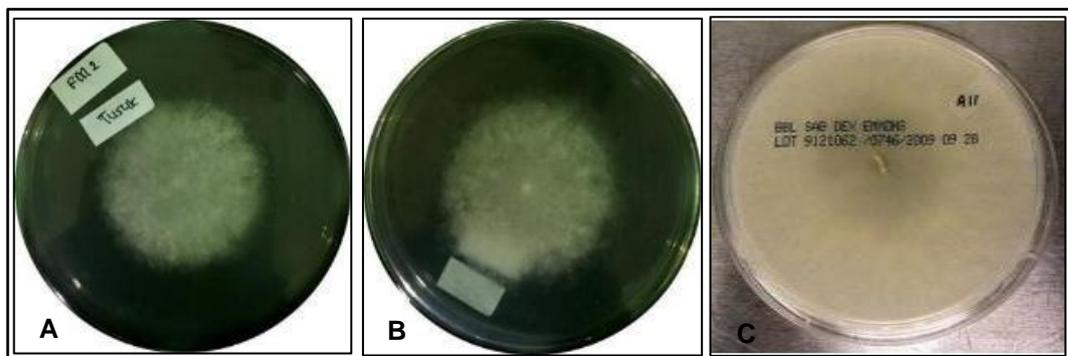
(*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) terlebih dahulu. Dimana pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni jamur endofit dari kontaminasi sehingga didapatkan isolat jamur yang murni. Digunakan medium PDA karena medium PDA merupakan medium yang bagus untuk pertumbuhan jamur karena memiliki pH yang rendah (pH 4,5 sampai 5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan pH 7,0. Dan kandungan dextrose dan karbohidrat yang cukup tinggi pada media PDA sangat berperan penting dalam proses metabolisme jamur.¹¹

Identifikasi makroskopik dan mikroskopik isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott)

Setelah dilakukan pemurnian pada sampel maka dilakukan pengujian makroskopik dan mikroskopik. Tujuan pengujian makroskopik adalah untuk melihat bentuk morfologi dari isolat jamur endofit mulai dari warna, permukaan koloni, bentuk, tepi, dan elevasinya.¹³

Tabel.1. Hasil pengamatan pengujian makroskopik isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott)

Kode fungi	Pengamatan makroskopik			
	Warna	Bentuk koloni	Tepi	Elevasi
FM2	Putih keabu-abuan	Sircular	Wooly	Flat



Gambar 1. Gambar makroskopik hasil pemurnian isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.)Schott); (A) Tampak depan; (B) Tampak belakang; (C) Koloni *Mucor sp*¹⁴

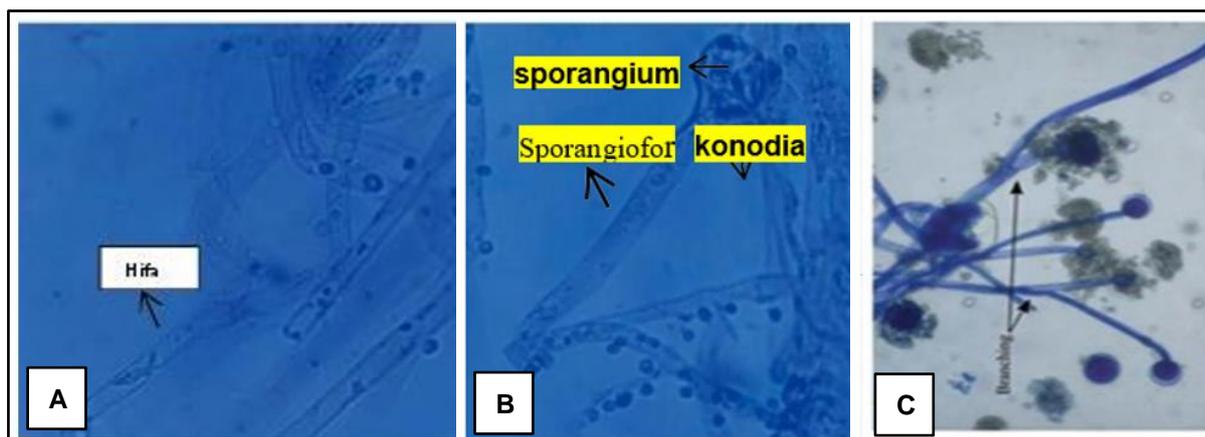
Dari hasil pengamatan makroskopik menunjukkan ciri-ciri koloni berwarna putih keabu-abuan, bentuk koloni sirkular, bentuk tepi wooly dan bentuk elevasi datar. Dimana ciri-ciri ini memiliki kemiripan dengan ciri makroskopik dari genus *Mucor sp.* Menurut Sciortino, Carmen V. Jr. edition 2017¹⁴, morfologi *Mucor sp.* tumbuh dengan cepat, berwarna putih kemudian koloni menjadi keabu-abuan hingga kecoklatandan beberapa

spesies berwarna kuning. pertumbuhan seperti kapas atau wol.

Setelah pengujian makroskopik maka dilanjutkan dengan pengujian mikroskopik. Dimana pengamatan mikroskopik meliputi ada tidaknya spora atau konidia, rhizoid, tipe hifa, bentuk spora dan konidia dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40-1000kali.¹⁵

Tabel 2. Hasil pengamatan mikroskopik isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott)

Kode Fungi	Pengamatan mikroskopik				
	Konidia		Sporangiofor	Hifa	Genus
	Bentuk	Warna			
FM 2	Bulat	Hialin	Panjang	Aseptat	<i>Mucor sp</i>



Gambar 2. Gambar mikroskopik hasil pemurnian isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) dengan menggunakan pembesaran 40-100 kali. (A) Pembesaran 40x; (B) Pembesaran 100x; (C) Gambar koloni *Mucor sp.*¹⁴

Dari hasil pengamatan secara makroskopik kemudian dilakukan identifikasi secara mikroskopik yang diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400-1000 kali bahwa isolat fungi endofit daun ekor nama (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) dengan kode isolat FM 2 memiliki bentuk konodia bulat, hialin, sporangiofor panjang dan hifa aseptat. Dimana ciri mikroskopik ini memiliki kemiripan pada genus *Mucor sp.* Menurut Sciortino, Carmen V. Jr. edition 2017¹⁴, morfologi

mikroskopik *Mucor sp.* hifa lebar aseptat hingga hampir tidak bersekat, hialin dan seperti pita. Sporangiofor panjang, tidak bercabang dan kadang bercabang dengan terminal, bulat sporangia berisi spora. Sporangiospora berbentuk bulat sampai oval, hialin. Tidak ada rhizoid atau stolon sejati.

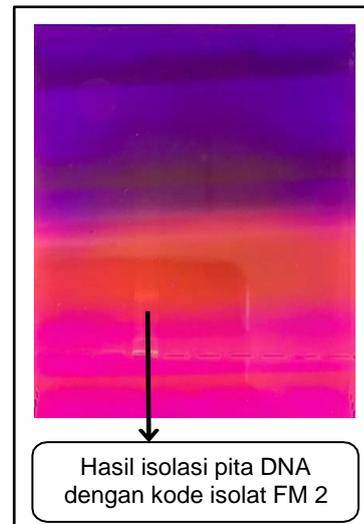
Isolasi DNA sampel isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott)

Identifikasi secara molekuler memerlukan tahapan awal yaitu isolasi DNA genom. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein dan karbohidrat. Isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia.³ Pada penelitian ini menggunakan metode lisis sel secara kimia dimana digunakan buffer lisis berisi senyawa kimia yang dapat merusak integritas barrier dinding sel.

Isolasi DNA terdiri dari tiga proses utama yaitu yang pertama proses lisis sel dimana diawali dengan menghancurkan membran sel menggunakan *Proteinase-K* untuk merusak protein dan kemudianditambahkan buffer lisis yang didalamnya terdapat *Sodium Dodecyl Sulfat* (SDS) yang berguna untuk mengikat lipid sehingga membran sel rusak dan semua isi sel keluar. Proses lisis sel menyebabkan DNA bercampur dengan makromolekul sel lainnya. Kemudian pada tahap kedua yaitu tahap purifikasi atau pemurnian DNA dari makromolekul sel dengan cara menambahkan fenol dan kloroform untuk mengikat makromolekul selain DNA seperti protein, lipid, dan karbohidrat. Dimana pada tahap ini DNA dan air akan terpisah dari bahan organik lainnya setelah di sentrifugasi. Kemudian tahap selanjutnya yaitu tahap presipitasi yaitu proses pemisahan atau penarikan air dari DNA dengan penambahan etanol. Kemudian ditambahkan *Ribonuklease* untuk menghilangkan RNA dari campuran DNA.¹⁶

Tahap selanjutnya adalah elektroforesis gel. Elektroforesis merupakan suatu cara analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul-molekul bermuatan didalam medan listrik. Pergerakan molekul

dalam medan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, dan besar muatan dari molekul. Elektroforesis melalui gel agarosa atau akrilamid merupakan teknik pemisahan yang sederhana, cepat dan tepat molekul yang diinginkan.¹⁷ Elektroforesis gel menggunakan dapar dimana dapar berfungsi sebagai penghantar arus listrik dalam elektroforesis. Kemudian hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV translaminator.



Gambar 3. Hasil elektroforesis isolat fungsi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott)

Berdasarkan hasil elektroforesis DNA menggunakan gel agarosa, didapatkan pita DNA dari hasil isolasi DNA isolat fungsi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott). Hal ini dapat dilihat dari satu pita tunggal yang muncul pada saat diamati dibawah lampu UV transluminator. Hasil ekstraksi ini menunjukkan bahwa isolasi DNA genom berhasil dengan baik sehingga dapat digunakan untuk analisis selanjutnya seperti amplifikasi PCR.

KESIMPULAN

Hasil identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik diperoleh hasil bahwa isolat

fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) menunjukkan bahwa fungi endofit daun ekor naga memiliki kemiripan dengan genus *Mucor sp.* Hasil isolasi DNA isolat fungi endofit daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) diperoleh Pita DNA pada sampel isolat fungi endofit yang berhasil di isolasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abdullah M, Fitriana F, Maryam St. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Fungi Endofit Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L.) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH). *As-Syifaa Jurnal Ilmiah*. 2020;12(2):117-122.
2. 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 Ilmiah*. 2019; 11(1):17-23.
3. Fadlila RN. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Dari Kulit Batang Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lamk.) (Skripsi). Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin, 2011.
4. Sumaiyah, Masfria, Dalimunthe A. Determination of Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and Antimutagenic Activity of Ethanol Extract Nanoparticles of *Rhaphidophora pinnata* (L.f) Schott Leaves. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2018;11(2):505-510.
5. Linelejan YT, Umboh SD, Tallei TE. Identifikasi Bakteri Endofit Daun *Ficus Minahassae* (Teijsm. & De Vriese) Miq. Berdasarkan Gen 16s rRNA. *Jurnal MIPA*. 2018; 7(2):16-19.
6. Maryam S, Sismindari, Raharjo TJ, Sudjadi, Rohman A. Determination of Porcine Contamination in Laboratory Prepared Dendeng Using Mitochondrial D-Loop686 and Cyt b Gene Primers by Real Time Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Food Properties*. 2016;19(1):187–195.
7. Triani N. Isolasi DNA Tanaman Jeruk Dengan Menggunakan Metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). *Jurnal Teknologi Terapan: G-Tech*. 2020;3(2):221-226.
8. Uyun HF, Indriawati R. Pengaruh Lama Hipoksia terhadap Angka Eritrosit dan Kadar Hemoglobin *Rattus norvegicus*. *Mutiara Medika*. 2013;13(1):49-54.
9. Agalloco J. *Validasi of Farmaseutical Processes (Electronic Version)*. USA: Informa Healthcare Inc. 2008.
10. Ramadhani SH, Samingin, Iswadi. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*. 2017;2(2):77-90
11. Amirullah A, Sartini S, Nainu F. Fungi Endofit Dari Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* L) Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*. 2019; 5(1):26-32.
12. Hidayah SM. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Umbi Bawang Putih (Allium sativum) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri Streptococcus mutans dan Escherchia coli (Skripsi)*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2010.
13. Fitriana F, Nurshitya E. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Isolat Fungi Endofit Dari Akar Mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume) Secara KLT Bioautografi. *As-Syifaa Jurnal Ilmiah*. 2017;9(1):27-36.
14. Sciortino CV. *Atlas of Clinically Important Fungi*. USA: John Wiley and Sons Ltd, 2017.
15. Akmalasari I, Purwati ES, Dewi RS. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Biosfera*. 2013;30(2):82-89.
16. Kamaliah. Perbandingan Metode Ekstraksi DNA Phenol-Chloroform dan Kit Extraction Pada Sapi Aceh dan Sapi Madura. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*. 2017;5(1):60-65.
17. Fuad ARM, Ulfin I, Kurniawan F. Penggunaan Agar-Agar Komersial Sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi

Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media.
Jurnal Sains dan Seni ITS. 2016;5(2).