

# KAPANG ENDOFIT DARI TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN MIKROBA PATOGEN *Salmonella thypi* DAN *Candida albicans*

Ruth Melliawati dan Puspita Suci Wulandari  
Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong 16911  
Bogor

## ABSTRACT

*Endophytic fungi live inside plants without harming the host. The purpose of this research was to screen endophytic fungi which could inhibit *Salmonella thypi* and *Candida albicans*, as well as characterizing of endophytic fungi, and antimicrobial compound produced by endophytic fungi. Some methods were used on this research. Diffusion agar plate methode was used to screen endophytic fungi which could produce antimicrobial compound against *Salmonella thypi* and *Candida albicans*. Standard plate count was used to measure fungi growth. Antimicrobial compound produced by endophytic fungi was analized by TLC and HPLC technique, compared with standard antibiotic, chloramphenicol and nystatin. The result showed 5 kinds of endophytic fungi produced antimicrobial compounds against *Salmonella thypi*. The largest zone of inhibition was 115 mm<sup>2</sup> shown by HI.25F.112. Two kinds of endophytic fungi were able to inhibit *Candida albicans* with the largest inhibiting zone was 164 mm<sup>2</sup> shown by HI.108F.481. The morphology of HI.108F.481 indicated that this fungus had vertical hypha with sporangium at the end of the hypha and HI.25F.112 had partitioned hypha and oval-shape ascus. TLC and HPLC analysis showed that water extract of HI.25F.112 (1s), chloroform extract of HI.25F.112 (1c) and chloroform extract of HI.108F.481 (2c) contained anti-microbial compound with retention time (RT) closed to chloramphenicol and water phase of HI.25F.112 (1s) closed to nystatin.*

**Key words:** *endophytic fungi, screening, antimicrobial compound, TLC, HPLC*

## PENGANTAR

Indonesia memiliki kurang lebih 30.000 jenis tumbuhan, 25% di antaranya adalah tumbuhan obat (Praptiwi dan Harapini, 2005). Kapang endofit merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman, tanpa merugikan tanaman inangnya (Pettrini, 1991). Tumbuhan merupakan inang bagi kapang endofit dan diketahui bahwa kapang endofit dapat menghasilkan zat bioaktif (Strobel dan Daisy, 2003). Zat bioaktif merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan untuk terapi suatu jenis penyakit (Bill *et al.*, 1994).

Salah satu kawasan Indonesia yang mempunyai keanekaragaman hayati yang tinggi adalah Taman Nasional Gunung Halimun. Taman Nasional ini merupakan sumber daya alam dan sumber daya mikroba yang belum banyak digali dan dimanfaatkan. Dilaporkan oleh Melliawati dkk. (2003) bahwa dari 126 sampel tumbuhan yang telah diisolasi dari Taman Nasional Gunung Halimun, diperoleh 532 isolat kapang dan 238 isolat bakteri. Penemuan mikroorganisme tersebut merupakan peluang besar untuk mendapatkan isolat baru yang menghasilkan senyawa bioaktif yang mungkin berguna baik untuk industri, pertanian maupun kedokteran.

Dalam bidang kedokteran, penyakit infeksi merupakan masalah yang cukup serius yang sering menyebabkan kematian (Madigan *et al.*, 2000). Sampai saat ini penanggulangan penyakit infeksi yang cukup efektif adalah dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam waktu yang lama akan menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten. Namun seiring dengan perkembangan dan perubahan kondisi lingkungan, menimbulkan berbagai masalah seperti yang dikemukakan Sanglard (2001) dan Bonjar *et al.* (2004) bahwa jumlah dan jenis penyakit infeksi menjadi luas (1), zat antimikroba semakin berspektrum sempit sehingga hanya efektif untuk jenis patogen tertentu (2), dan ada kecenderungan mikroba resisten terhadap zat antimikroba tertentu (3). Hal ini yang mendorong para ahli kesehatan, mencari sumber bahan obat baru untuk mengatasi mikroba patogen, salah satunya adalah menggunakan potensi dari mikroba endofit. Diketahui bahwa bakteri *S. thypi* penyebab infeksi bagian dalam tubuh, terutama saluran pencernaan sedang *C. albicans* penyebab keputihan (infeksi alat kelamin wanita). Maka tujuan penelitian ini adalah menyeleksi kapang endofit yang menghasilkan senyawa bioaktif antimikroba patogen *S. thypi* dan *C. albicans*.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Mikroba

Kapang endofit yang digunakan sebanyak 30 isolat yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun (TNGH) Jawa Barat (Melliawati dkk., 2003). Isolat tersebut merupakan koleksi Puslit Bioteknologi LIPI Cibinong. Mikroba patogen *S. thypi* dan *C. albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### Seleksi Kapang Potensial

Seleksi kapang endofit penghasil senyawa antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar padat (*Diffusion Agar Plate Methode*). Metode seleksi diambil dari Melliawati dkk. (2007). Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar kapang endofit. (Desriani dan Lestari, 2004; Strobel *et al.*, 2001). Luas zona hambat dihitung dengan rumus dalam Sukara *et al.* (1992).

### Pola Pertumbuhan Kapang Endofit Terseleksi

Kapang endofit terseleksi diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer 500 ml yang berisi medium cair *Potato Dextrose Broth* (PDB) 100 ml. Diinkubasikan dalam *incubator shaker* pada suhu ruang selama 5–7 hari. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam terhadap pertumbuhan sel kapang dan pH medium. Penghitungan jumlah sel kapang dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Pola pertumbuhan kapang endofit, penting dipelajari untuk mengetahui pertumbuhan kapang secara maksimal karena diperkirakan senyawa bioaktif diperoleh secara maksimal pada pertumbuhan kapang yang maksimal. Setelah diketahui pola pertumbuhan sel dari kapang terseleksi, maka dilanjutkan memproduksi senyawa aktif tersebut melalui fermentasi cair. Ke dalam

Erlenmeyer 1 liter yang berisi medium PDB 300 ml, diinokulasikan 3% (v/v) suspensi kapang endofit, kemudian diinkubasikan dalam inkubator yang dilengkapi pengocok dengan kecepatan 150 rpm. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang, selama 5 hari untuk isolat kapang HL.25F.112 dan 2 hari untuk isolat kapang HL.108F.481 (lama inkubasi masing-masing pada *fase stasioner*).

### Analisis

Analisis dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), *spot* yang terdeteksi ditentukan nilai Rf-nya dengan rumus dalam Khopkar (1990), nilai rf adalah

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat spot zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

dan analisis ekstrak hasil kolom menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menurut Gritter *et al.* (1991)

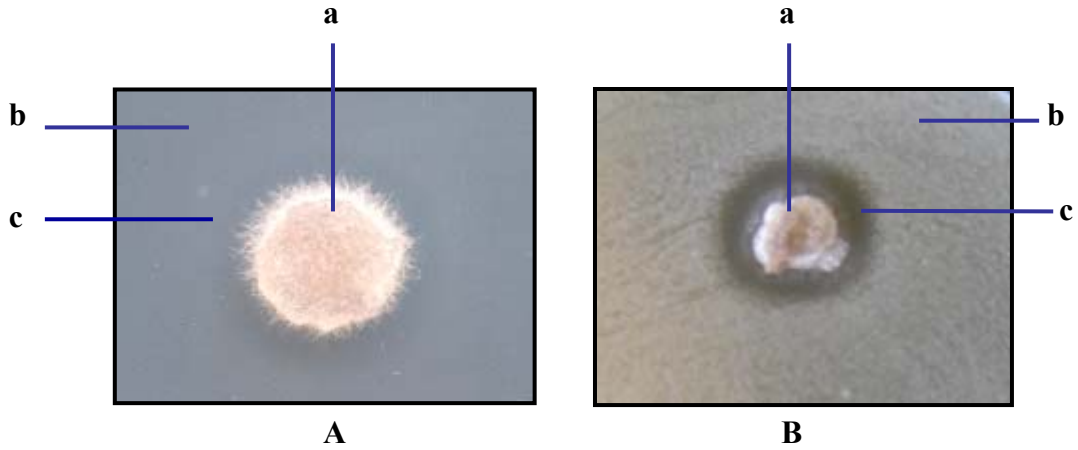
Kondisi KCKT yang digunakan:

- Pompa : Jasco, PU-980
- Detektor : Jasco, UV-970 MD-910  
multiwavelength
- Pencetak : Jasco, 807-PT Integrator
- Kolom :  $\mu$  Bondapak™ C<sub>18</sub> 10  $\mu$ m  
1235 A (3,9 × 300 mm)
- Suhu kolom : Suhu Ruang
- Fase gerak : Kloroform : Metanol = 1:4
- Laju air : 1 ml/menit
- Panjang gelombang : 319 nm
- Tekanan : 98–100 kg/cm<sup>2</sup>
- Volume injeksi standart: 5  $\mu$ l
- Volume injeksi contoh : 20  $\mu$ l
- Sistem : Isokratik

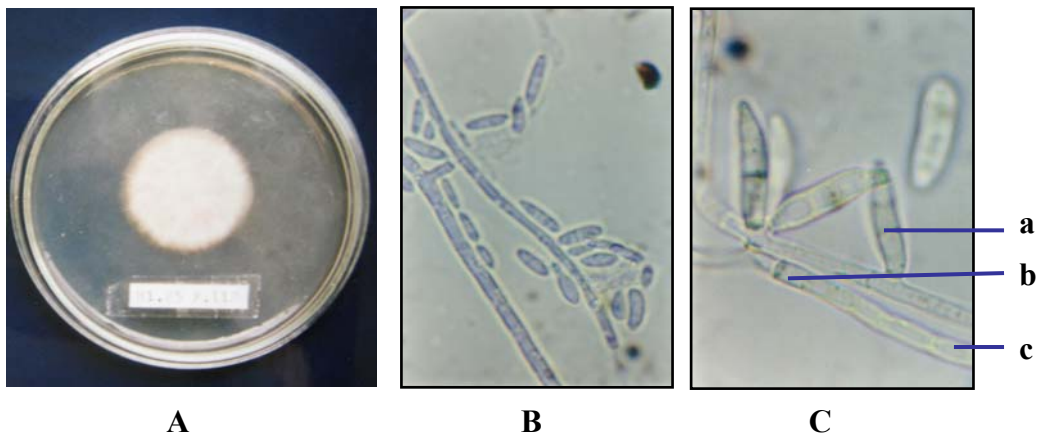
## HASIL

**Tabel 1.** Hasil seleksi kapang endofit terhadap mikroba patogen *C. albicans* dan *S. typhi* (7 isolat kapang terseleksi dari 30 isolat yang diuji)

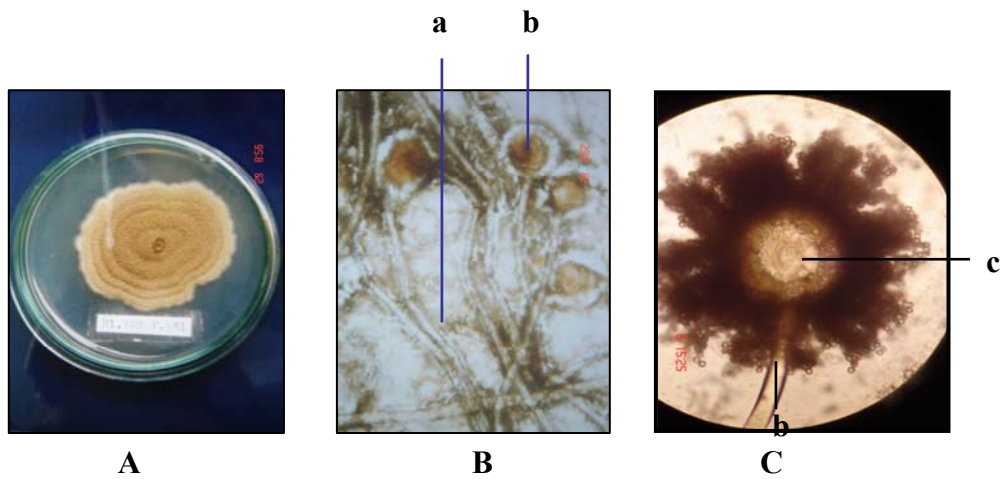
No. Isolat	Asal tanaman	Kode Isolat	Luas Zona Hambat (mm <sup>2</sup> )	
			<i>C. albicans</i>	<i>S. thypi</i>
9	<i>Altingia exelca</i> Noronha	HL.20F.90	-	79
11	<i>Saurauia pendula</i> Bl.	HL.25F.112	-	115
23	<i>Mallotus paniculatus</i>	HL.65F.293	-	80
26	<i>Bridellia glauca</i> Blume	HL.66F.302	-	90
28	<i>Begonia robusta</i> Blume	HL.103F.465	79	-
29	<i>Laportea stimulans</i> (L.F.) gaud. Ex. Mig	HL.108F.476	-	90
30	<i>Laportea stimulans</i> (L.F.) gaud. Ex. Mig	HL.108F.481	164	-



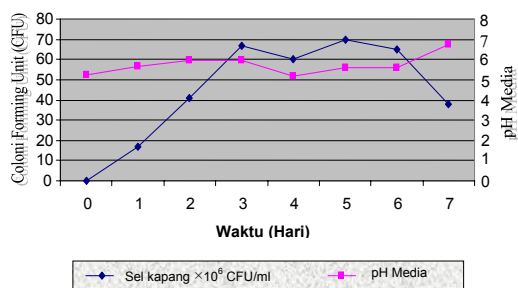
**Gambar 1.** Zona yang dibentuk oleh kapang HL.25F.112 terhadap *S. thypi* (A) dan oleh kapang HL.108F.481 terhadap *C. albicans* (B) pada medium NA. a. Kapang endofit b. Mikroba patogen c. Zona hambat



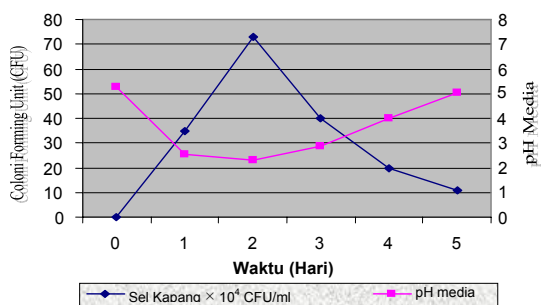
**Gambar 2.** Morfologi kapang HL.25F.112 pada medium PDA umur 5 hari. Secara makroskopis dalam cawan Petri (A) dan mikroskopis pada perbesaran 100× (B). Pada perbesaran 1000× (C). a. Askus b. Sekat c. Hifa



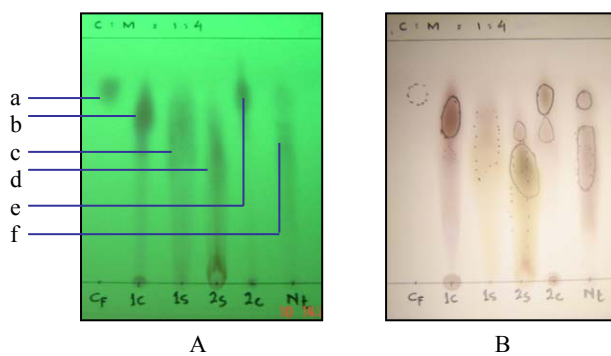
**Gambar 3.** Morfologi kapang HL.108F.481 pada medium PDA umur 5 hari secara makroskopis dalam cawan petri (A), penampakan mikroskopis kapang pada perbesaran 100× (B), dan sporangium yang sudah pecah pada perbesaran 1000× (C) a. Sporangium yang belum pecah b. Sporangiofor c. Kolumela



**Gambar 4.** Pola pertumbuhan dan kondisi pH kapang HL.25F112 selama proses fermentasi, pada medium PDB selama 7 hari, suhu ruang, 150 rpm



**Gambar 5.** Pola pertumbuhan dan kondisi pH dari kapang HL.108F.481 selama proses fermentasi, pada medium PDB selama 7 hari, suhu ruang, 150 rpm



**Gambar 6.** Hasil KLT senyawa antimikroba kapang endofit pada silica gel 60 F<sub>254</sub> dengan senyawa pembanding antibiotik kloramfenikol dan nistatin pada UV 254 nm (A) dan setelah pewarnaan dengan serum sulfat 1% (B).  
 a. Spot antibiotik kloramfenikol (Cf).  
 b. Spot fase kloroform kapang HL.25 F.112 (1c).  
 c. Spot fase air kapang HL.25 F.112 (1s).  
 d. Spot fase air kapang HL.108 F.481 (2s).  
 e. Spot fase kloroform kapang HL.108 F.481 (2c).  
 f. Spot antibiotik nistatin (Nt).

**Tabel 2.** Hasil KLT pada silica gel 60 F<sub>254</sub>, dengan eluen Kloroform:Metanol = 1:4 (Gambar 6)

Kode	Sampel	C : M	Rf	UV 254 nm	Pereaksi Warna
Cf	Kloramfenikol	1 : 4	0,78	fluoresense	tidak berwarna
1c	HL.25 F.112 Ekstrak dlm kloroform	1 : 4	0,70	fluoresense	coklat pink
1s	HL.25 F.112 Ekstrak dlm air	2 : 3	0.82	fluoresense	kuning ungu
2s	HL.108 F.481 Ekstrak dlm air	5 : 2	0.70	fluoresense	kuning ungu
2c	HL.108 F.481 Ekstrak dlm kloroform	1 : 4	0,80	fluoresense	coklat ungu
Nt	Nistatin	1 : 4	0.74	fluoresense	ungu tua

**Tabel 3.** Hasil analisis KCKT dengan eluen Kloroform:Metanol = 1:4

No.	Kode Sampel	RT Sampel	Luas Area (%)	Senyawa Pembanding	RT Senyawa Pembanding	Deviasi %
1.	HL.108F.481 2c (A2)	3,245	72,2	kloramfenikol	3,122	3,94
2.	HL.25F.112 1c (A3)	3,200	81,4	kloramfenikol	3,122	2,49
3.	HL.25F.112 1s (B2)	3,205	68,7	kloramfenikol	3,122	2,66
		2,193	1,9	nistatin	2,122	3,35

## PEMBAHASAN

### Seleksi kapang endofit terhadap mikroba patogen

Hasil seleksi terhadap 30 isolat kapang endofit diperoleh 7 isolat kapang potensial yang menghasilkan senyawa bioaktif antimikroba patogen. Lima isolat kapang menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan 2 isolat kapang menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Luas daya hambat kapang endofit diperlihatkan pada Tabel 1. Dua isolat di antaranya memperlihatkan zona hambat yang cukup tinggi, yaitu isolat kapang HL.25F.112 menghasilkan zona hambat dengan luas 115 mm<sup>2</sup> terhadap *S. typhi* (Gambar 1A) dan isolat kapang HL.108F.481 dengan luas zona hambat 164 mm<sup>2</sup> terhadap *C. albicans* (Gambar 1B). Kedua isolat ini mampu menghasilkan zona hambat lebih besar dari isolat yang lainnya. Zona hambat menunjukkan kemampuan kapang tersebut mensekresikan senyawa bioaktif ke dalam medium dengan tujuan mempertahankan hidup dengan menghambat pertumbuhan mikroba lain yang ada di sekitarnya.

### Pengamatan mikroskopis kapang endofit

Hasil pengamatan terhadap isolat kapang HL.25F.112 yang ditumbuhkan pada medium PDA, secara visual memiliki miselium yang lebat berwarna putih keunguan. Secara mikroskopis kapang ini memiliki askus yang berbentuk bulat memanjang, serta hifa yang bercabang dan bersekat, seperti pada Gambar 2B dan 2C. Kapang HL.25F.112 diisolasi dari batang tumbuhan *Saurauia pendula* Bl. atau dikenal dengan nama *kileho* (Melliawati *et al.*, 2004). Secara tradisional daun tanaman ini dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tetes mata (Harada *et al.*, 2002). Hasil uji seleksi menunjukkan bahwa isolat kapang HL.25 F.112 potensial menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

Isolat kapang HL.108F.481 dalam medium PDA pada cawan petri, memperlihatkan koloni berwarna coklat kehijauan dan beberapa waktu kemudian menjadi coklat tua. Secara mikroskopis, memiliki hifa tegak yang pada ujungnya berbentuk bulat berwarna coklat kehitaman, bagian ini adalah sporangium yang berisi spora (Gambar 3B dan 3C). Hasil pengamatan terhadap kapang tersebut menunjukkan tanda-tanda ke arah genus *Aspergillus*, namun masih perlu diteliti lebih lanjut. Isolat kapang HL.108F.481 diisolasi dari batang tumbuhan *Laportea stimulans* (L.F.) Gaud. Ex. Miq. atau dikenal dengan nama *pulus* (Melliawati *et al.*, 2004). Daun tumbuhan ini biasa dimanfaatkan masyarakat sekitar untuk mengatasi penyakit

batuk, menggigil, dan sakit mata (Harada *et al.*, 2002). Isolat kapang HL.108F.481 mampu menghambat khamir *C. albicans* dengan memperlihatkan zona jernih yang luas.

### Pola pertumbuhan kapang endofit terseleksi

Pola pertumbuhan isolat kapang HL.25F.112 (Gambar 4), memperlihatkan populasi maksimal dicapai pada hari ke-5 dengan populasi sel tertinggi dicapai  $7 \times 10^7$  CFU/ml dan pH medium 5,57. Sementara untuk HL.108F.481 (Gambar 5) memperlihatkan pertumbuhan maksimal pada hari ke-2 dengan populasi tertinggi diperoleh  $7,3 \times 10^5$  CFU/ml dengan kondisi pH sangat rendah (2,52). Turunnya pH disebabkan karena terjadi proses katabolisme sumber karbon oleh kapang endofit yang menyebabkan terakumulasinya sejumlah asam dalam medium. Khususnya isolat kapang HL.108F.481 mengalami masa eksponensial sangat singkat demikian juga fase stationer. Penentuan fase pertumbuhan penting untuk dilakukan karena berkaitan dengan ketepatan waktu suatu sel kapang menghasilkan metabolit sekunder. Penelitian Simanjuntak *et al.* (2002) membuktikan bahwa produk metabolit sekunder mulai dihasilkan kapang dengan intensitas terbesar pada akhir fase eksponensial atau awal fase stasioner (saat beberapa sumber nutrisi mulai terbatas) hingga akhir fase kematian.

Fase stasioner dimulai ketika sel-sel kapang tidak lagi menunjukkan pertambahan jumlah yang signifikan. Penurunan kecepatan tumbuh terjadi karena keterbatasan unsur-unsur pertumbuhan setelah digunakan pada fase sebelumnya. Saraswati *et al.* (2003) menginformasikan bahwa suasana kekurangan O<sub>2</sub> akan mengurangi produksi energi untuk pertumbuhan, sekaligus mengalihkan penggunaan substrat untuk pemeliharaan sel dan pembentukan metabolit sekunder.

### Proses fermentasi dan ekstraksi

Proses fermentasi dilakukan terhadap kedua kapang tersebut. Isolat kapang HL.25F.112 dipanen pada hari kelima (Gambar 4) sedang isolat kapang HL.108F.481 pemanenan dilakukan pada hari kedua (Gambar 5). Filtrat dari masing-masing kapang diekstrak dengan kloroform sebagai pelarut nonpolar sebab dimungkinkan ada jenis senyawa yang larut dalam pelarut polar maupun nonpolar. Hasil ekstraksi berupa sampel dalam fase air yang diuapkan dengan evaporator (kurang lebih 100° C) sedang fase kloroform dikeringanginkan untuk mendapatkan ekstrak yang pekat. Sampel fase air dilarutkan dengan metanol sebagai pelarut polar dan ekstrak kloroform tetap dilarutkan dengan kloroform sebagai pelarut nonpolar.

### Analisis dengan KLT

Senyawa pembanding digunakan antibiotik kloramfenikol yang dilarutkan dalam air dan nistatin dilarutkan dalam pelarut metanol. Kedua antibiotik tersebut digunakan sebagai senyawa pembanding, karena sampai saat ini antibiotik tersebut masih dipakai untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh *S. typhi* dan *C. albicans*. Selain itu antibiotik tersebut mempunyai spektrum yang luas.

Hasil analisis KLT diperlihatkan pada Tabel 2 dan Gambar 6. Berdasarkan data ini dapat diketahui bahwa sampel HL.25F.112 fase kloroform (1c) pada C:M = 1:4 diperoleh Rf = 0,7, sedangkan pada fase air (1s) terangkat baik pada perbandingan C:M = 2:3 dengan Rf = 0,82. Sampel HL.108F.481 fase air (2s) tidak dapat menunjukkan *spot* yang baik pada tiap perbandingan eluen, namun terlihat cukup baik pada C:M = 5:2 dengan Rf = 0,7, sedangkan fase kloroform (2c) menunjukkan *spot* yang jelas pada C:M = 1:4 dengan Rf = 0,8.

### Analisis KCKT

Berdasarkan hasil analisis, dapat diketahui bahwa sebagian besar senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh mikroba endofit memiliki RT yang mendekati antibiotik kloramfenikol (Tabel 3). Kloramfenikol merupakan antibiotik sintesis yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba patogen melalui mekanisme penghambatan sintesis protein. Kloramfenikol mampu melekat pada subunit 50S ribosom, dan mampu melakukan pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang mulai timbul sehingga mengganggu sintesis protein mikroba patogen, sedangkan nistatin menghambat pertumbuhan mikroba patogen melalui mekanisme penghambatan sintesis membran sel (Katzung, 1997). Untuk antibiotik pembanding nistatin hanya ditemukan satu jenis senyawa saja yang mendekati RT nistatin.

Selain senyawa-senyawa yang memiliki RT mendekati RT senyawa pembanding, masih banyak pula senyawa lain hasil produksi kapang endofit yang belum diketahui jenisnya. Untuk mengetahui jenis senyawa yang terbentuk, perlu diadakan analisis lebih lanjut dengan menggunakan pembanding antibiotik yang beraneka ragam.

Kesimpulan penelitian ini adalah kapang endofit asal Taman Nasional Gunung Halimun mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi sumber daya mikroba untuk keperluan produk farmasi (antibiotik). Tujuh isolat kapang endofit terseleksi menghambat pertumbuhan mikroba patogen (5 isolat terhadap *S. typhi* dan 2 isolat

terhadap *C. albicans*). Hasil analisis KCKT terhadap ekstrak HL.108F.481 menunjukkan RT yang mendekati kloramfenikol sedang ekstrak HL.25F.112 menghasilkan RT yang mendekati kloramfenikol juga nistatin. Penelitian ini masih perlu dilanjutkan dengan menggunakan GC, NMR untuk mengetahui identitas senyawa dan struktur senyawa bioaktif tersebut.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pimpinan Proyek Penelitian Bioteknologi LIPI yang telah memberi dana dan kesempatan untuk melakukan penelitian ini. Disampaikan pula ucapan terima kasih kepada sdr. Nuryati dan sdr. Bustan yang membantu penelitian ini sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

### KEPUSTAKAAN

- Bill GFF, Relaez JD, Polishook MT, Diez-Matas GA, Horrvs WH, Clapp C, Dufresne KM, Byrne M, Nallin-Omstead RG, Jenkins M, Mojina L, Huang, dan Bergstrom JD, 1994. Distribution of zarogozic acid (squalestatins) among filamentous ascomycetes. *Mycological Research* 98: 733–739.
- Bonjar GHS, Fooladi MH, Mahdavi MJ dan Shahghasi A, 2004. Broad-spectrum, A Novel Antibacterial from *Streptomyces sp.* *Biotechnol.* 3(2): 126–130.
- Desriani AM dan Lestari Y, 2004. Screening of *Streptomyces* spp. Producing  $\beta$ -Laktamase Inhibitory Protein. *Hayati* 11(3): 88–92.
- Gritter RJ, Bobbitt JM, dan Schwarting AE, 1991. Pengantar kromatografi. Penerbit ITB, Bandung.
- Harada K, Rahayu M, Muzakkir A, 2002. *Medicinal Plant of Gunung Halimun National Park, West Java, Indonesia*. JICA. PAL Media Citra, Bandung.
- Katzung BG, 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Khopkar SM, 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerbit UI, Jakarta.
- Madigan MT dan Martinko JM, Parker J, 2000. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall Inc., New Jersey.
- Melliawati R, Oktoviani DM, Parwati T, Simanjuntak P, 2003. Produksi Senyawa Aktif Antimalaria Hasil Fermentasi *Bacillus polymixta* AT12. *J. Biosains dan Tekn. Ind.* 3(1): 24–27.
- Melliawati R, Simanjuntak P, Harmastini, Karsono H, Lekatompessy S, Widawati T, Widyaningrum DN, Oktavina F, Ismawati E, Febrianti, Nuryati, Nurdjanah, Rivai A, Sukmawijaya D, Adang, dan Muplih, 2004. Pengembangan Agensi Biologis, untuk Pupuk Bio dan Pengendalian Penyakit Tumbuhan. *Laporan Teknik Penelitian Puslit Biotek-LIPI*

- Melliawati R, Ismawati E, Octavina F. 2007. Kapang Endofitik Potensial Sebagai Penghasil Anti Mikroba Patogen. *Jurnal Berkala Ilmiah Biologi*. 6(1) : 9–17.
- Petrini O, 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial Ecology of leaves* (Andrew, J. and Hirano, S. Eds.) Springer-Verlag, New York, 179–197.
- Praptiwi, dan Harapini M, 2005. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah Mbosi (*Dysoxylum gaudichandianum* (A.Juss) Miq.) dan Penapisan Senyawa Kimianya. *Biota* 10(2): 93–97.
- Sanglard D, 2001. Integrated Antifungal Drug Discovery in *Candida albicans*. *Nature Biotechnology* 19: 212–213.
- Saraswati R, Syamsu K, Susilowati N, Laila B, dan Andhayani RS, 2003. Produksi Masa Sel Rhizobium dengan Teknologi Bioproses. *J. Mikrobiol. Ind.* 8(2): 47–52.
- Simanjuntak P, Melliawati R, Soekmanto A, Parwati T, dan Bustanussalam, 2002. Pengembangan Bahan Baku Zat Bioaktif Anti Malaria dari Kapang Endofit Tumbuhan Obat Indonesia. *Laporan Teknik Penelitian Puslit Biotek-LIPI*.
- Strobel G dan B Daisy, 2003. Bioprospecting for Microbial Endophyte and Their Natural Products. *Microbiol. and Mol. Bio. Rev.* 67(4): 491–502.
- Strobel GA, Dirkse E, Sears J, dan Markworth C, 2001. Plant-Microbe Interactions Volatile Antimicrobials From *Muscodor albus*, a Novel Endophytic Fungus. *Microbiol.* 147: 2943–2950.
- Sukara E, Melliawati R, Saono S, 1992. Amylases Production From Cassava by an Indigenous Yeast. *J. Sci. Tech. Develop* 9(1): 157–168.

Reviewer: **Dr. Ni'matuzahroh**