DOI: http://dx.doi.org/10.33846/sf14119

Isolasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Ester Rampa
Analis Kesehatan, Universitas Sains dan Teknologi Jayapura; rampaester@gmail.com.com
Seflywanti Manurun
Laboratorium Klinik ASA Jayapura; seflywanti00@gmail.com
Herlando Sinaga
Analis Kesehatan, Universitas Sains dan Teknologi Jayapura; herlandosinaga03@gmail.com (koresponden)

ABSTRACT

Isolation in this study is the first step to determine the presence of endophytic fungi in the fruit and leaves of starfruit (Averrhoa bilimbi L.). The aim of this study was to determine whether there were endophytic fungi in the fruit and leaves of starfruit. The type of research used was descriptive with laboratory tests to isolate endophytic fungi from the fruit and leaves of starfruit. The sample used were fruit and leaves of starfruit. This research was carried out for 3 months, from January 9 to April 9, 2021 at the Microbiology Laboratory, FMIPA, Cendrawasih University, Jayapura. Data collection was carried out in the following stages: (1) isolation of endophytic fungi using the surface sterilization method and (2) conventional identification of endophytic fungi by observing macroscopic and microscopic morphological characters. Based on the isolation results, two isolates were obtained from fruit and three isolates from leaves. The conclusion of this study is that the endophytic fungi that have been isolated are the Genus Penicillium sp, Rhizopus sp, Aspergillus sp, Phoma sp and one isolate that has not been identified.
***Keywords**: isolation; endophytic fungi; starfruit*

ABSTRAK

Isolasi dalam penelitian ini merupakan langkah awal untuk mengetahui keberadaan fungi endofit dalam buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya fungi endofit pada buah dan daun belimbing wuluh. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan uji laboratorium untuk mengisolasi jamur endofit dari buah dan daun belimbing wuluh. Sampel yang digunakan adalah buah dan daun belimbing wuluh. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, dari tanggal 09 Januari sampai dengan 09 April 2021 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Cendrawasih Jayapura. Pengumpulan data dilakukan dengan tahap sebagai berikut: (1) isolasi fungi endofit dengan menggunakan metode sterilisasi permukaan dan (2) identifikasi fungi endofit secara konvesional yaitu dengan mengamati karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh dua isolat yang berasal dari buah dan tiga isolat dari daun. Kesimpulan penelitian ini adalah fungi endofit yang berhasil diisolasi adalah Genus *Penicillium sp, Rhizopus sp, Aspergillus sp, Phoma sp* dan satu isolat yang belum teridentifikasi.
Kata kunci: isolasi; fungi endofit; belimbing wuluh

PENDAHULUAN

Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan tumbuhan tropis yang tergolong dalam genus *Averrhoa* dan dikenal masyarakat sebagai salah satu tanaman obat tradisional. Setiap bagian dari tanaman mempunyai kegunaan masing-masing, misalnya bagian buah dan daun dimanfaatkan sebagai obat batuk dan untuk menyembuhkan jerawat, kulit batang belimbing wuluh juga diketahui memilki aktifitas antimikroba. Berbagai khasiat yang dimiliki *Averrhoa bilimbi* tersebut disebabkan karena tumbuhan ini memiliki banyak sekali kandungan senyawa antara lain saponin, flavonoid dan alkaloid.(1)

Fungi endofit adalah fungi yang hidup dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa merugikan tanaman inangnya.(2) Fungi endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder dengan senyawa bioaktif yang sama atau mirip dengan inangnya sehingga isolasi senyawa bioaktif tersebut tidak harus menebang tanaman inang sebagai simplisianya sehingga biodiversitas tanaman tersebut akan tetap terjaga. Salah satu senyawa yang dihasilkan oleh fungi endofit *Cryptosporiopsis quercina* yang berhasil diisolasi berpotensi sebagai antijamur yang patogen terhadap manusia yaitu *Candida albicans* dan *Trichopyton sp*.(3) Oleh sebab itu, penelitian-penelitian untuk mengeksplorasi keanekaragaman jenis serta kandungan zat bioaktif yang diproduksi oleh mikroba endofit khususnya fungi endofit dalam jaringan tanaman perlu dilakukan. Isolasi dan identifikasi merupakan langkah awal untuk mendeteksi keberadaan fungi endofit dalam suatu tanaman.(4)

Isolasi fungi adalah proses memisahkan fungi dari habitat atau lingkungannya dan menumbuhkan sebagai biakan murni dalam medium buatan. Isolasi fungi baik patogen maupun nonpatogen umumya menggunakan teknik kultur pada media pertumbuhan jamur yaitu PDA (*Potato Dextrose* Agar) yang memiliki pH yang rendah (pH 4,5 sampai 5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.(5) Metode yang umum digunakan dalam isolasi fungi endofit adalah metode teknik tanam langsung yang diawali dengan sterilisasi permukaan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui fungi endofit yang dapat diisolasi pada buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi.L).*

METODE

Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan uji laboratorium untuk mengisolasi jamur endofit dari buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan yaitu pada tanggal 09

Januari 2021 sampai 09 April 2021. Penelitian ini akan di laksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Cendrawasih Jayapura. Populasi dalam penelitian ini adalah semua tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi.L)* yang berada di Kelurahan Wai Mhorok Distrik Abepura Kota Jayapura. Sampel dalam penelitian ini adalah buah dan daun tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L).*

Alat dan bahan yang akan disterilkan dibungkus kertas dan aluminium foil, lalu dimasukkan ke dalam autoclave dan diatur rapi. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121^0C dengan tekanan 15 psi *(per square inchi)* selama 15 menit.

Media PDA ditimbang sebanyak 39 gram dan ditambahkan kloramfenikol sebanyak 0,2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml, Aquades ditambahkan sebanyak 1000 ml, dan dilarutkan hingga homogen. Larutan media tersebut dipanaskan di atas hotplate dan diaduk dengan stirer hingga berbuih lalu tutup dengan kapas steril. Media disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^0C selama 15 menit. Media dituangkan ke dalam cawan petri dan penuangan tersebut dilakukan di dalam LAF.(6)

Sterilisasi permukaan, proses sterilisasi permukaan buah dan daun belimbing wuluh yaitu, buah dan daun belimbing wuluh yang masih segar dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan dengan tissue steril**.** Buah dan daun yang telah kering direndam ke dalam beaker glass steril yang berisi etanol 70% selama 1 menit, dilanjutkan sterilisasi dengan NaOCl 5,3% selama 5 menit, lalu direndam kembali dengan alkohol 70% selama 30 detik**.** buah dan daun dibilas dengan aquades steril sebanyak 2 kali, masing-masing 3-5 detik.

Isolasi fungi endofit dilakukan dengan teknik tanam langsung (*direct seed* planting). Menurut Rahmawati (2017), isolasi fungi endofit dari buah dan daun belimbing wuluh, buah dan daun yang telah disterilisasi, ditiriskan di atas cawan petri steril yang telah diberi kertas saring steril dan dibiarkan kering. Setelah kering, buah dan daun dipotong dengan pisau skalpel steril menjadi ukuran 1 cm. Potongan sampel ditempatkan pada cawan petri yang berisi media PDA dengan diberi sedikit tekanan. Bagian potongan buah dan daun harus menempel pada permukaan media. Inokulasi sampel dilakukan diatas cawan petri, setiap cawan petri berisi 2 potongan sampel, sampel diinkubasi selama 2-14 jam pada suhu 27-29^0C (suhu ruang). Semua proses strerilisasi permukaan hingga isolasi dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Pada aquades bilasan terakhir diambil 1 ml dan dituang ke dalam media PDA yang baru untuk digunakan sebagai kontrol sterilisasi permukaan buah, jika pada media kontrol tumbuh fungi, maka sampel fungi tersebut bukan merupakan fungi endofit. Pengamatan dilakukan 2 hari sekali selama fungi endofit nampak tumbuh.(6)

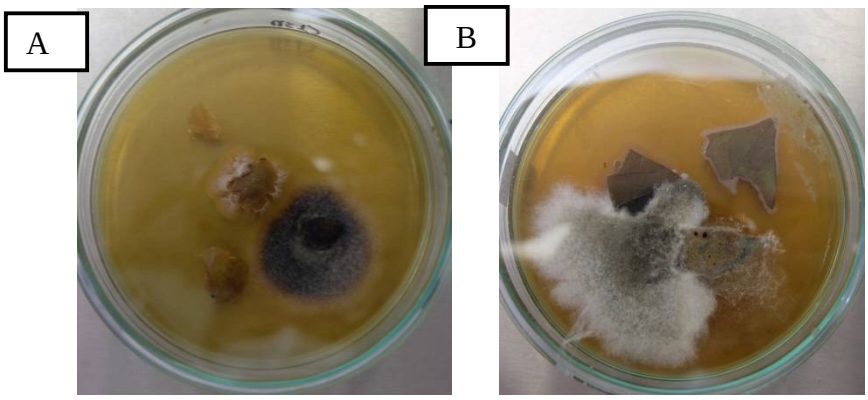
Fungi endofit yang telah tumbuh pada media isolasi PDA, dimurnikan masing-masing yang dianggap berbeda berdasarkan kenampakan morfologi makroskopis meliputi warna dan bentuk koloni pada media PDA baru. Hal ini berfungsi untuk memperoleh isolat fungi endofit yang murni. Cara pemurnian fungi endofit pada media PDA baru yaitu, alat dan bahan diletakkan di dalam LAF**.** Koloni fungi endofit dari media PDA lama diambil menggunakan ose bulat steril**,** koloni tersebut kemudian ditanam pada media PDA baru**,** fungi endofit diinkubasi pada suhu 25^0C selama 3-14 hari.(7)

Fungi endofit yang telah diinkubasi 7 hari pada suhu ruangan, diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara langsung melihat warna permukaan, bentuk permukaan, dan tepi koloni fungi endofit. Sedangkan pengamatan ciri-ciri mikroskopis dilakukan dengan cara melihat bentuk konidia, hifa, dan konidiofor fungi endofit menggunakan mikroskop.

Pembuatan preparat untuk pengamatan secara mikroskopis yaitu, obyek glass dan ose difiksasi mengunakan api spirtus, LCB diteteskan sebanyak 1 tetes di atas obyek glass steril. Koloni fungi diambil menggunakan ose kemudian diletakkan pada obyek glass yang telah ditetesi LCB, preparat tersebut kemudian ditutup dengan cover glass. Preparat diamati diatas mikroskop dengan pembesaran 100 dan 400 X.

HASIL

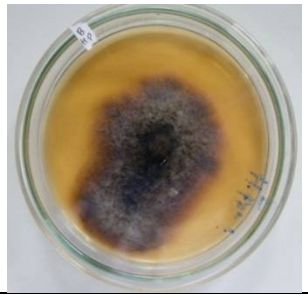
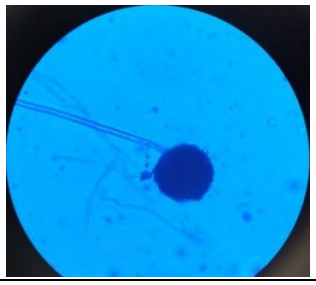
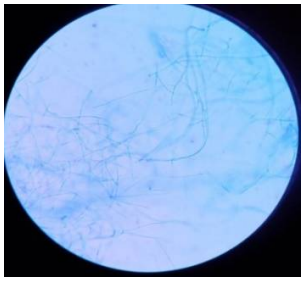
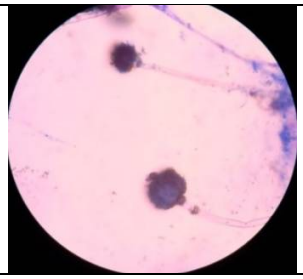
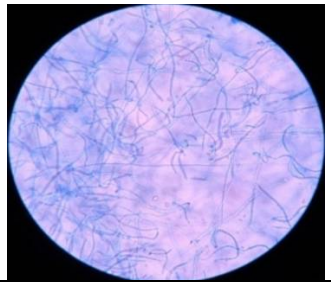
Penelitian ini menggunakan sampel buah dan daun belimbing wuluh (*A. bilimbi)* yang telah disterilisasi permukaan kemudian dilanjutkan dengan isolasi pada media PDA dengan teknik tanam langsung. Sampel diinkubasi pada suhu 27^0C selama 7-14 hari. Kemudian sampel dimurnikan pada media PDA yang baru kemudian diinkubasi pada suhu 27^0C selama 7 hari. Hasil isolasi fungi endofit yang berhasil diisolasi dari buah dan daun *A. bilimbi* pada media PDA ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. A. Fungi endofit dari buah *A bilimbi,* B. Fungi endofit dari daun *A. bilimbi*

Fungi endofit yang berhasil diisolasi kemudian dimurnikan pada media PDA yang baru. Fungi endofit hasil pemurnian diperoleh dua isolat yang berasal dari buah yaitu *Penicillium sp* dan *Rhizopus sp* dan tiga isolat dari daun yaitu *Aspergillus sp, Phoma sp* dan 1 isolat yang belum teridentifikasi. Fungi endofit yang berasal dari buah diberikan kode isolat B1 dan B2, sedangkan fungi endofit yang berasal dari daun diberikan kode isolat D1, D2 dan D3. Hasil isolasi fungi endofit secara makroskopis dan mikroskopis pada buah dan daun belimbing wuluh (*A. bilimbi)* ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil isolasi fungi endofit dari buah dan daun belimbing wuluh

No	Kode isolat	Hasil isolat		Keterangan
		Makroskopis	Mikroskopis	
1.	B1			*Penicillium sp*
2.	B2			*Rhizopus sp*
3.	D1			Belum teridentifikasi
4.	D2			*Aspergillus sp*
5.	D3			*Phoma sp*

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada Gambar 1. diatas membuktikan bahwa fungi endofit dapat ditemukan pada buah dan daun belimbing wuluh *(A. bilimbi)* dimana fungi tampak tumbuh disebelah dalam belahan buah dan daun belimbing wuluh. Hal ini sesuai dengan pernyataan Worang, bahwa fungi endofit terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, buah, bunga, umbi, ranting, maupun akar tumbuhan.(8)

Fungi endofit yang tumbuh kemudian dilakukan pemurnian untuk mendapatkan isolat tunggal. Isolat fungi endofit yang dihasilkan dari buah dan daun belimbing wuluh setelah dilakukan pemurnian menunjukkan kenampakan yang beraneka ragam baik dari bentuk koloni, warna koloni, maupun lama pertumbuhan sehingga memudahkan bagi peneliti untuk membedakan dan memisahkan fungi endofit yang satu dan yang lainnnya pada saat pemurnian. Hasil isolasi pemurnian yang telah dilakukan ditunjukkan pada Tabel 1 diatas, dimana terdapat 2 isolat yang berasal dari buah dengan kode B1 dan B2, dan 3 isolat yang berasal dari daun dengan kode D1, D2 dan D3.

Berdasarkan Tabel 1 hasil identifikasi karakter morfologis isolat B1 warna koloni awalnya berwarna biru kehijauan (1-5 hari) saat berumur 7 hari, mensekresikan eksudat berupa lendir berwarna jingga dipingggir koloni. Memiliki koloni bentuk oval berwarna hijau pucat kelabu denagn tepi koloni berarna putih kekuningan dengan tekstur koloni yang padat. Berdasarkan buku identifikasi dari Samson *et al*. menyatakan bahwa, anggota genus *Penicillium* memiliki tekstur koloni padat, konidiofor panjang, warna konidium umumnya abu-abu kehijauan, hijau kusam, hijau kuning dan putih. Jamur anggota genus *Penicillium* sering mengeluarkan tetesan berupa eksudat kuning bening/kuning muda.(9)

Jamur isolat B1 anggota genus *Penicillium* secara mikroskopis tipe hifa bersekat, hialin, badan jamur menyerupai sapu dan metula biasanya ± 3-5 fialid. Jamur ini memiliki fialid berbentuk silinder, meruncing. Konidia berbentuk bulat/semi bulat, memiliki konidiofor, percabangan tiga tingkat (*quaterverticillate*). Menurut Gams *et al*. dan Kurasein *et al*. karakter jamur anggota genus *Penicillium* yaitu memiliki hifa bersepta, dilengkapi dengan stipe, cabang, metula, fialid, menyerupai botol dengan leher panjang dan pendek. Jamur anggota genus *Penicillium* sebagian besar memiliki konidiofor, tipe konidiofor tunggal *(mononematus*) atau majemuk (s*ynematous*), konidiofor tunggal membagi beberapa fialid. Jamur *Penicillium* umumnya memiliki fialid berbentuk silindris pada bagian basal yang menyempit di bagian leher. Tipe percabangan konidiofor jamur *Penicillium* terdiri dari satu tingkat (*biverticillata-simetris*), dua tingkat (*biverticillata asimetris*) dan tiga macam tingkatan atau lebih (*Quarterverticillata*).(10,11)

Menurut Elfina *dkk*, jamur *Penicillium* sp menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif. Kemampuan penghambatan terhadap bakteri dan fungi yang diujikan kemungkinan disebabkan oleh kempuan *Penicillium* sp dalam menghasilkan antibiotic penisilin yang dapat menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel bakteri. Penisilin menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat sintesis enzim atau inaktivasi enzim untuk mensintesi peptidoglikan yang merupakan komponen penting diniding sel bakteri. Terhambatnya sintesis peptidoglikan menyebabkan hilangnya viabilitas dan sering menyebabkan sel bakteri menjadi.(12)

Berdasarkan Tabel 1 hasil identifikasi karakter morfologis isolat B2 memiliki koloni berwarna putih seperti kapas, bentuk koloni bulat, tekstur koloni jamur halus, bagian tepi koloni lebih tebal jika dibandingkan dengan bagian tengah atau pusat. Samson *et al*. dan Gandjar *et al*. menyatakan bahwa, anggota genus *Rhizopus* secara memiliki koloni berbentuk lingkaran, berwarna putih dengan permukaan seperti kapas, sangat halus dan lembut mengeluarkan eksudat berwarna kuning.(9,13)

Jamur isolat B2 genus *Rhizopus* memiliki stolon berwarna coklat, sporangiofor tunggal, panjang dan hialin. Sporangium dalam bentuk askus di dalamnya terdapat spora. Sporagium berbentuk oval, dilengkapi dengan kolumella menyerupai corong (Tabel 1). Samson *et al*. dan Gandjar *et al*. menyatakan anggota genus *Rhizopus* memiliki sporangiofor tunggal atau berkelompok, sub hialin, berwarna kecoklatan, kolumella berbentuk semi bulat hingga bulat menyerupai corong, rhizoid sangat pendek, halus, saat dewasa sporangium globuse/semi bulat berwarna hitam kecoklatan. Kolumella berbentuk ovoid sering poligonal, klamidospora ada tunggal, rantai pendek, dan tidak berwarna.(9,13)

Menurut Indrawati *dkk.*, isolat fungi endofit dari kulit batang langsat yaitu *Rhizopus* sp menunjukkan aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing memiliki zona daya hambat rata-rata 15,67 mm dan 17,76 mm. Secara umum kandungan kulit batang langsat memilki beberapa kandungan kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan triterperoid. Kemungkinan besar adanya zat aktif yang sama dihasilkan oleh *Rhizopus sp.*

Berdasarkan Tabel 1 hasil identifikasi karakter morfologi isolat D1 memiliki permukaan koloni berwarna putih, memiliki bentuk koloni tidak beraturan dan menyebar, tesktur permukaannya kasar. Sedangkan pengamatan mikroskopisnya menunjukkan hifa hialin, tak bersekat dan bercabang, tidak ditemukan konidia. Berdasarkan deskripsi makroskopis dan mikroskopis bahwa jamur isolat D1 belum teridentifikasi karena tidak ditemukan penanda spesifik.

Hasil identifikasi makroskpis berdasarkan Tabel 1 karakter morfologis isolat D2 awalnya tepi koloni berwarna putih (umur 1-5 hari), saat umur koloni lebih dari 7 hari koloni berubah menjadi hitam kecoklatan. Bentuk koloni bulat tak beraturan dan spora berukuran kecil. Tekstur koloni kasar dan mudah menyebar. Menurut Alvarez *et al.* serta Kubicek dan Haman menyatakan bahwa, jamur anggota genus *Aspergillus* memiliki ciri-ciri koloni berwarna hitam kecoklatan dengan tepi koloni putih, dan ada koloni yang berbentuk bulat dengan tekstur spora kasar.(14,15)

Jamur isolat D2 genus *Aspergillus* memiliki tipe hifa berseptat, hialin (tidak berwarna), memiliki konidiofor, tidak ada cabang, mempunyai metula, konidia bentuk oval kecil menempel teratur di ujung sterigmata, vesikel berbentuk bulat hingga semi bulat. Samson *et al*., Elmer *et al.* (1978) menyatakan bahwa jamur anggota genus *Aspergillus* memiliki hifa berseptat, memiliki konidia berbentuk semi bulat dengan konidiofor panjang

dan kolumnar. Vesikel berbentuk semi bulat, menyerupai corong beukuran pendek ditutupi oleh fialid yang berbentuk oval dan metula berbentuk silindris. Konidia melekat pada ujung satu baris sterigmata yang teratur melingkar pada permukaan ujung konidiaspora.(9,16)

Menurut Posangi, jamur *Aspergillus* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Sing dan Bharate, bahwa secara umum senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Aspergillus* sp. Bersifat netral, polar, dan memiliki gugus fenol. Fenol ini mampu mendenaturasi protein pada dinding dan membrane sel bakteri dan fungi. Jamur *Aspergillus* sp. Pada media steril suhu kamar yaitu 25^0C dalam sehari sudah mulai membentuk aflatoksin. Produksi aflatoksin ditentukan oleh macam karbohidrat dalam substrat dan *alfa-amilase* yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus*, maka pembentukan aflatoksin sangat ditentukan pula oleh faktor potensial genetic fungi dan lama kontak antara fungi dengan substrat.(17,18,19)

Identifikasi hasil berdasarkan Tabel 1 karakter morfologis isolat D3 mumpunyai warna koloni putih keabu-abuan, tipe pertumbuhan koloni konsentris dan tekstur permukaan koloni kasar, hifa berseptat, membentuk klamidospora. Hasil pengamatan mikroskopis dan makroskopis karakter isolat D3 tersebut sesuai dengan karakter yang dimiliki oleh *Phoma sp.* Menurut Domsch dan Gams, menyatkan bahwa *Phoma sp* mempunyai warna koloni konsentris, dapat membentuk piknidia, klamidospora, konidia berukuran kecil.(20)

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian isolasi fungi endofit dari buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa fungi endofit yang berdahsail diisolasi adalah Genus *Penicillium sp, Rhizopus zp, Aspergillus sp, Phoma sp,* dan satu isolat yang belum teridentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fahrunida, Rarastoeti P. Kandungan saponin buah, daun, dan tangkai belimbing wuluh *(Averhoa bilimbi. L*). Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 2015.
2. Widowati T, Bustanussalam B, Harmastini S, Partomuan S. Isolasi dan identifikasi kapang endofit dari tanaman kunyit (*Curuma longa* L.) sebagai penghasil antioksidan. Jurnal Bioproposal Industri. 2016;7(1): 9-16.
3. Radji M. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. Majalah Ilmu Kefarmasian 3. 2005.
4. Sinaga E, Noverita, Dinah F. Daya antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari daun rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Sw.). Jurnal Farmasi Indonesia. 2009;4(4):161-170.
5. Aini N. Media alternatif untuk pertumbuhan jamur menggunakan sumber karbohidrat yang berbeda. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2015.
6. Rahmawati E. Isolasi dan identifikasi fungi endofit dari buah dan daun strawberry (*Fragaria x ananassa*) sebagai penghasil senyawa antioksidan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; 2017.
7. Noverita, Dinah F, Ernawati S. Isolasi dan uji aktivitas anti bakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii*. Jurnal Farmasi Indonesia. 2009;4(4):171-176.
8. Worang RL. Makalah individu pengantar falsafah sains (PPS702). Bogor: Program Pascasarjana/S3 Institut Pertanian Bogor; 2003.
9. Samson RA, Houbkaren J, Thrane JC, Frisvad, Andersen F. Food and indoor fungi, fungal biodiversity cente Utrecht. Netherlends; 2010.
10. Gams WHA, Van der AJ, Samson RA, Stalpers JA. *CBS course of mycology*, central bereau voor *schimmel* cultures. Belanda; 1987.
11. Kuraesin TI, Sugoro MR, Pikoli S, Hermanto, Aditiawati P. Isolasi dan seleksi fungi *Penicillium sp.* solubilisasi batubara subbituminous. Jurnal Biologi Lingkungan. 2009;3(2):75-87.
12. Elfina D, Martina A, Roza RM. Isolasi dan Karakterissasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Manggis (*Garcina mangostana L*) sebagai Antimikroba Terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Online Mahasiswa Bidang MIPA. 2014;1:1-10.
13. Gandjar I, Syamsyuridzal W, Octarri A. Mikrobiologi dasar dan terapan. Yayasan Obat Indonesia; 2006.
14. Alvarez-Perez S, Mateos LA, Dominguez E, Martinez-Nevado JL, Blanco ME, Garcia. Polyclonal *Aspergillus fumigatus* infection in captive penguins. Veterinary Microbiology. 2010;144(3):444-449.
15. Kubicek CP, Harman GE. Trichoderma and gliocladium. Basic Biological, Taxonomy and Genetics. The Taylor and Francis e-Library; 2002.
16. Elmer WK, Glenn DR, Sara EW. Practical laboratory mycologi 2nd edition. United States of Amerika: The Williams and Wilkins Co; 1978.
17. Posangi J, Robert AB. Analisis aktivitas dari jamur endofit yang terdapat dalam tumbuhan bakau avicennia marina di tasik ria minahasa. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis. 2014;1(1):30-38.
18. Singh IP, Bharate SB, Bhutani KK. Anti-HIV natural products. Journal Current Science. 2005;89(2):269-290.
19. Purnamasari L, Ali A, Cuk TN. Kajian produksi Aflatoksin B1 kasar dari isolat kapang *Aspergillus flavus* lokal pada media jagung dan jagung kacang tanah. Buletin Peternakan. 2016;40(2):133-137.
20. Domsch KH, Gams W. Compendium of soil fungi Volume 1. London: Academic Press; 1980.