

PENGARUH VARIASI KONDISI FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI METABOLIT ANTIBAKTERI EKSTRAK ISOLAT I5 FUNGI ENDOFIT *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

Submitted : 26 Juli 2019

Edited : 20 Desember 2019

Accepted : 30 Desember 2019

Ismail¹, Megawati¹, Alimuddin Ali², Fuji Asmiati Ningsih¹

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km 13,7, Daya, Makassar

² Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas

Negeri Makassar, Jl. Malengkeri No. 44, Parang Tambung, Tamalate, Makassar

Email : ismail.farm27@gmail.com

ABSTRACT

Endophytic fungi are one of the microorganisms that live in plants and symbiotic with their host plant produce secondary metabolites. This study aims to determine the optimum growth profile of endophytic fungus isolated from the leaf of Anredera cordifolia (Ten.) Steenis namely isolate I5 as antibacterial. The fungus growth profile optimization analyzed by a correlation between fermentation time and mycelium weight, which collected every 24 hours for 15 days. The media were varied at pH conditions of 4, 7, and 8 in each PDYB medium (glucose and fructose substrates). The results showed that isolate I5 grew optimally on the 13th day on the PDYB medium pH 8. Ethyl acetate extract 5% of isolate I5 could inhibit bacteria growth with the largest inhibition zone diameter against Staphylococcus aureus of 9.96 mm (± 0.60) and Escherichia coli of 9.03 mm (± 0.46).

Keywords: *Endophytic fungi, Anredera cordifolia (Ten.) Steenis, Antibacteria*

PENDAHULUAN

Mikroba endofit merupakan organisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, dan buah. Endofit dan tumbuhan inang dapat bersimbiosis mutualisme, dalam hal ini endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tumbuhan yang mempunyai aktivitas untuk melindungi tumbuhan inangnya sedangkan tumbuhan mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya⁽¹⁾. Endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman aslinya atau berbeda namun khasiat yang dipunyai bisa sangat beragam dan berkontribusi menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki karakteristik tertentu⁽²⁾. Kapang endofit merupakan

organisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit terhadap tanaman inangnya dan memiliki potensi besar untuk menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai senyawa obat, dan senyawa bioaktif tersebut antara lain alkaloid, terpenoid, sterois, quinon, dan fenol⁽³⁾.

Salah satu jenis tanaman yang layak untuk dikembangkan pemanfaatannya sebagai tanaman obat adalah Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Kandungan kimia yang terdapat pada daun binahong antara lain flavonoid, asam oleanolik, protein, asam askorbat dan saponin. Berbagai kandungan kimia tersebut menyebabkan daun binahong dapat bersifat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, analgesik dan antioksidan⁽⁴⁾.

Bentuk perkembangan bioteknologi dalam hal ini adalah peningkatan produksi metabolit sekunder melalui mikroba khususnya jamur yaitu melalui proses fermentasi. Hal ini dilakukan untuk menghasilkan produk metabolit sekunder yang bersifat unggul dan dalam jumlah melimpah⁽²⁾. Pembentukan produk hasil fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu substrat dan pH. Pengukuran pH dilakukan agar medium dapat dipertahankan berada pada pH optimum selama fermentasi.

Pada penelitian sebelumnya oleh Ismail *et al.*, 2019 telah dilakukan isolasi fungi endofit dari daun tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai senyawa antiradikal bebas dan antimikroba dan diperoleh hasil isolat fungi endofit sebanyak Sembilan dan salah satu diantaranya I5 yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* 9,73 mm dan *Escherichia coli* sebesar 13,18 mm⁽⁵⁾. Menurut VanderMolen *et al.*, 2013 Variasi dalam lingkungan pertumbuhan jamur memiliki dampak yang signifikan pada kuantitas dan keragaman metabolit sekunder yang dihasilkan, optimasi kondisi tumbuh dapat meningkatkan produksi senyawa secara signifikan⁽⁶⁾. Optimasi merupakan langkah awal kultivasi jamur dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder bioaktif.

METODE PENELITIAN

Bahan

Isolat fungi endofit I5 diperoleh dari penelitian sebelumnya (Ismail *et al.*, 2019), Bahan-bahan yang digunakan yaitu alkohol 70%, aquadest, asam klorida (HCl) 0.1 N, bakteri *Escherichia coli* ATCC 83125, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, etil asetat, etanol 70%, fruktosa, isolat I8 fungi endofit tanaman binahong, glukosa, medium *Nutrient Agar* (NA) (Merck®), medium *Potato Dextrose Agar*

(PDA) (Merck®), medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB) (Merck®), natrium hidroksida (NaOH) 0.1 N, NaCl fisiologis 0,9%, *paperdisc blank*, *paperdisc* Tertrasiklin

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf (Nuair®), batang pengaduk, bunsen, cawan petri, cawan porselin, corong pisah (Pyrex®), enkas, desikator, Erlenmeyer (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gunting, inkubator (Mermert®), kaki tiga, laminar air flow (LAF), mikro pipet (Dragonmed®), ose bulat, ose lurus, oven (Falc®), pH universal (Suncare®), pencadangan, pinset, pipet tetes, sendok tanduk, tabung reaksi (Pyrex®), timbangan analitik (Toledo®) dan vial.

Sterilisasi Alat

Pertama-tama alat gelas yang digunakan dicuci dengan detergen, kemudian dibilas dengan air suling lalu dikeringkan. Untuk alat-alat gelas yang berskala dan terbuat dari plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan alat-alat gelas tidak berskala disterilkan di oven suhu 180°C selama 2 jam.

Pembuatan Medium

Pembuatan Medium *Nutrient Agar*

Serbuk NA sebanyak 23 gram dilarutkan dalam 1000 mL aquadest dan dipanaskan, kemudian diukur pH medium menggunakan pH Meter dan penambahan Asam Klorida (HCl) 0,1 N atau Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N, sehingga diperoleh pH 7 dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB)

Serbuk PDYB (*Potato Dextrose Yeast Broth*) sebanyak 19,8 gram dilarutkan dalam

750 mL aquadest dan dipanaskan, setelah larut kemudian ditambahkan 3 gram yeast ekstrak dan dipanaskan, kemudian diukur pH medium menggunakan pH Meter dan penambahan Asam Klorida (HCl) 0,1 N atau Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N, sehingga diperoleh pH 6 dan dibagi ke dalam 15 botol kaca steril kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB) pH 4, 7 & 8

Medium PDYB masing-masing 50 mL dimasukkan ke dalam botol kaca, kemudian diukur pH medium menggunakan pH Meter dan penambahan Asam Klorida (HCl) 0,1 N atau Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N, sehingga diperoleh medium PDYB pH 4, 7 dan 8, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB) + Glukosa pH 4, 7 & 8

Medium PDYB masing-masing 50 mL dimasukkan ke dalam botol kaca, ditambahkan dengan Glukosa masing-masing sebanyak 1 g kemudian diukur pH medium menggunakan pH Meter dan penambahan Asam Klorida (HCl) 0,1 N atau Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N, sehingga diperoleh medium PDYB pH 4, 7 dan 8, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB) + Fruktosa pH 4, 7 & 8

Medium PDYB masing-masing 50 mL dimasukkan ke dalam botol kaca, ditambahkan dengan Fruktosa masing-masing sebanyak 1 g kemudian diukur pH medium menggunakan pH Meter dan penambahan Asam Klorida (HCl) 0,1 N atau

Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N, sehingga diperoleh medium PDYB pH 4, 7 dan 8, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Kultur Starter Isolat I5

Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara memasukkan 1 ose isolat fungi endofit I5 yang telah diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 25°C ke dalam botol kaca yang telah berisi medium PDYB sebanyak 50 mL, selanjutnya kultur starter diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari.

Pembuatan Kultur Bakteri Uji

Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara memasukkan 1 ose isolat *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* ke dalam medium NA miring sebanyak 5 mL yang telah disterilkan, selanjutnya kultur bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli*

Inokulum *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* masing-masing disiapkan dengan menginokulasikan 1 ose koloni murni yang telah berumur 24 jam. Inokulum diencerkan menggunakan Natrium Klorida (NaCl) fisiologis 0,9% sampai setara dengan standar 0,5 McFarland.

Fermentasi Fungi Endofit

Proses fermentasi dibuat dengan cara kultur starter sebanyak 1 mL, diinokulasikan ke dalam masing-masing botol kaca yang berisikan media PDYB sebanyak 50 mL yang telah disterilkan. Fermentasi dilakukan selama 15 hari pada suhu kamar.

Penentuan Profil Pertumbuhan Isolat I5 Fungi Endofit

Selama proses fermentasi, cairan fermentat (cairan fermentasi) diambil dan miselia fungi dipanen setiap 24 jam untuk

mendapatkan profil pertumbuhan fungi endofit. Profil pertumbuhan fungi endofit dibuat berdasarkan penambahan berat sel kering miselia fungi dan pengujian aktivitas cairan fermentat. Adanya penambahan berat kering dari miselia dan hasil uji aktivitas cairan fermentasi selama proses fermentasi menunjukkan pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder dari isolat fungi, sehingga dapat dibuat profil pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder isolat fungi endofit. Penambahan berat kering miselia dan hasil pengujian aktivitas diplotkan pada sumbu *Y*, sedangkan waktu fermentasi diplotkan pada sumbu *X*. Dari grafik tersebut dapat diperoleh pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder dari isolat fungi.

Pengujian Aktivitas Fermentat dari Profil Pertumbuhan

Medium *Nutrient Agar* sebanyak 5 mL dituang ke dalam cawan petri sebagai lapisan pertama. Setelah medium memadat, diletakkan pencadang di atas medium. Selanjutnya 1 ose suspensi bakteri uji dicampurkan bersama 10 mL medium *Nutrient Agar* (NA) kemudian dituang sebagai lapisan kedua. Dicaput pencadang setelah medium memadat. Selanjutnya setiap lubang sumuran diisi dengan cairan fermentat yang diperoleh dari hasil fermentasi setiap hari kurang lebih 20 μ L dan diinkubasi selama 1-24 jam pada suhu 37°C. Untuk melihat aktivitas dari cairan kultur isolat kode I5 ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar sumuran. Hasil pengujian aktivitas diplotkan pada sumbu *Y*, sedangkan waktu fermentasi diplotkan pada sumbu *X*. Dari grafik tersebut dapat diperoleh pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder dari isolat fungi.

Optimasi Kondisi Fermentasi Isolat Fungi Endofit I5 dengan Variasi pH dan Substrat Medium dalam Produksi Metabolit Sekunder

Fermentasi

Sebanyak 1 mL kultur starter diinokulasikan ke dalam botol kaca fermentasi yang berisi 50 mL medium produksi PDYB, medium PDYB dengan penambahan Glukosa, medium PDYB dengan penambahan Fruktosa dengan variasi pH 4,7 dan 8. Fermentasi dilakukan sesuai dengan waktu optimum pertumbuhan I5 yang didapatkan sebelumnya.

Pengujian Aktivitas Fermentat

Medium *Nutrient Agar* sebanyak 5 mL dituang ke dalam cawan petri sebagai lapisan pertama. Setelah medium memadat, diletakkan pencadang di atas medium. Selanjutnya 1 ose suspensi bakteri uji dicampurkan bersama 10 mL medium *Nutrient Agar* (NA) kemudian dituang sebagai lapisan kedua. Dicaput pencadang setelah medium memadat. Selanjutnya setiap lubang sumuran diisi dengan cairan fermentat kurang lebih 20 μ L lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Untuk melihat aktivitas dari cairan kultur isolat kode I5 ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar sumuran. Hasil pengujian aktivitas diplotkan pada sumbu *Y*, sedangkan waktu fermentasi diplotkan pada sumbu *X*. Dari grafik tersebut dapat diperoleh pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder dari isolat fungi.

Fermentasi Produksi Isolat I5 Skala Besar

Sebanyak 5 mL kultur starter diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 250 mL medium PDYB pH 8 yang telah didapatkan berdasarkan variasi pH dan substrat optimum sebelumnya.

Ekstraksi Media Fermentasi

Setelah proses fermentasi berakhir, media fermentasi fungi dipisahkan dari miselia fungi dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Media

fermentasi tersebut diekstraksi cair-cair sebanyak tiga kali dengan etil asetat. Media fermentasi dan etil asetat dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok perlahan selama kurang lebih 5 menit. Setelah dikocok, campuran media fermentasi dan pelarut didiamkan beberapa saat untuk memisahkan bagian media dan pelarut yang telah tercampur selama proses pengkocokan. Setelah dua bagian tersebut telah terpisah kembali, pelarut yang mengandung senyawa bioaktif terlarut dituang ke dalam cawan porselin, selanjutnya pelarut diuapkan untuk menghasilkan ekstrak.

Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Isolat I5 Fungi Endofit

Paperdisk direndam ke dalam larutan ekstrak sebanyak konsentrasi 0,5%, 1%, 3% dan 5% lalu didiamkan \pm 30 menit hingga ekstrak terserap baik oleh paperdisk, selanjutnya diletakkan pada permukaan medium *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung *S. aureus* dan *E. coli*. Tiap cawan petri berisi 4 paperdisk mengandung ekstrak (0,5%, 1%, 3% dan 5%), 1 kontrol positif (tetrasiklin), dan 1 kontrol negatif (DMSO). Diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati zona hambat dan diukur diameter hambat menggunakan jangka sorong.

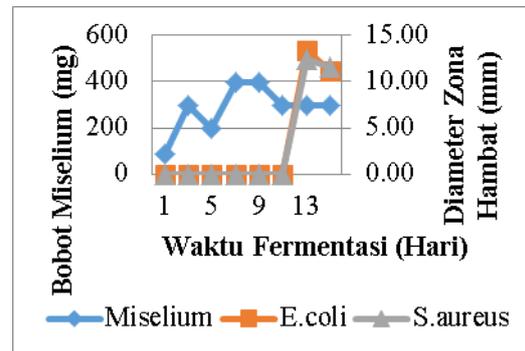
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pengaruh variasi kondisi fermentasi terhadap produksi metabolit antibakteri terlarut etil asetat isolat I5 fungi endofit *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

Isolat yang digunakan adalah isolat I5 fungi endofit (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang merupakan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh (Ismail *et al.*, 2019)⁽⁵⁾.

Penentuan profil pertumbuhan Isolat I5 dimaksudkan untuk mengetahui waktu optimum pertumbuhan Isolat I5 yang

didasarkan pada bobot miselium dan pengujian aktivitas cairan fermentat setiap harinya selama 15 hari.

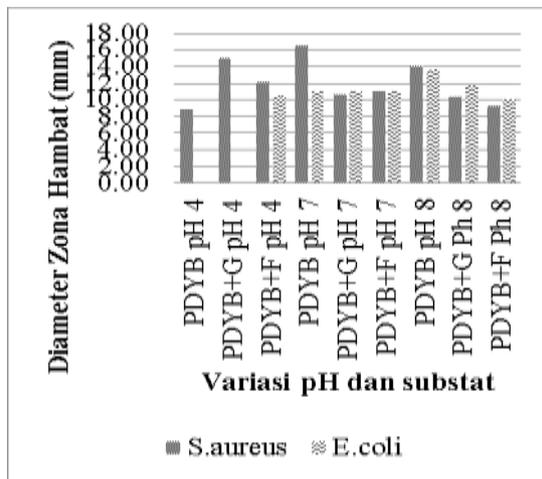


Gambar 1. Profil pertumbuhan Isolat I5 Fungi Endofit. Sumbu X: Waktu fermentasi (hari); sumbu Y: Bobot miselium (mg); sumbu Z: Diameter zona hambat (mm) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Berdasarkan grafik yang telah disajikan pada Gambar 1 bahwa fungi endofit Isolat I5 dalam fase lag (adaptasi) pada hari pertama, fase log (pertumbuhan) pada hari ke-3, fase stasioner pada hari ke-7 hingga hari ke-9, dan fase kematian (Death Phase) pada hari ke-11 hingga hari ke-15. Sehingga dapat diketahui bahwa waktu optimum pertumbuhan Isolat I5 terjadi pada hari ke-13 dengan diameter zona hambat tertinggi yaitu 13,37 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 12,39 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Setelah didapatkan waktu optimum pertumbuhan Isolat I5 yaitu pada hari ke-13 maka dilakukan fermentasi selama 13 hari dengan melihat pengaruh substrat dan pH pada medium fermentasi. Kapang mempunyai pH optimum antara 5 dan 7, dan dapat tumbuh pada kisaran pH 3-8,5. Rentang pH yang divariasikan yaitu pH 4, 7 dan 8 yang masing-masing mewakili suasana asam, netral dan basa.

Substrat yang ditambahkan pada media yaitu glukosa dan fruktosa yang merupakan turunan monosakarida. Fruktosa dan glukosa merupakan jenis karbohidrat yang paling mudah dimanfaatkan oleh fungi sebagai sumber senyawa karbon untuk pertumbuhannya. Menurut Gandjar (2006) bahwa senyawa karbon organik yang dimanfaatkan oleh fungi sebagai sumber senyawa karbon yaitu berasal dari karbohidrat⁽⁷⁾. Karbohidrat menyediakan hampir semua karbon yang dibutuhkan oleh fungi. Banyak fungi yang memanfaatkan monosakarida tetapi hanya sedikit yang memanfaatkan disakarida dan polisakarida karena tidak memiliki kemampuan untuk menghidrolisis molekul-molekul besar tersebut.

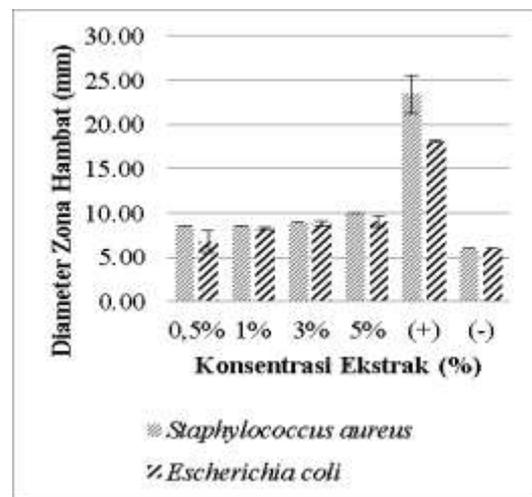


Gambar 2. Pengaruh variasi pH dan substrat isolat I5 fungi endofit. Sumbu X: Waktu fermentasi (hari); sumbu Y: Diameter zona hambat (mm) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Pada fermentasi variasi pH dan substrat yang disajikan pada Gambar 2 dapat diketahui bahwa medium yang paling baik terhadap pertumbuhan isolat I5 adalah medium PDYB tanpa penambahan substrat dengan pH 8 dihasilkan diameter zona

hambat 13,98 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 13,62 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Isolat I5 kemudian difermentasi dengan skala besar berdasarkan waktu produksi, pH dan substrat yang paling optimum dari profil pertumbuhan yang telah didapatkan. Dalam hal ini, Isolat I5 tumbuh baik pada hari ke-13 dengan medium PDYB pH 8.

Pada hari ke-13, miselium disaring dan dikeringkan untuk mendapatkan bobot miselium dan cairan fermentat diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat 1:1 (v/v), diuapkan fase etil asetat dan diperoleh ekstrak fermentat. Di samping itu, etil asetat digunakan sebagai pelarut karena menurut Wardhani and Sulistyani, (2012) bahwa etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri⁽⁸⁾. Ekstrak fermentat dibuat dalam 4 konsentrasi ekstrak yaitu 0,5%, 1%, 3% dan 5% menggunakan DMSO. Pengujian aktivitas antibakteri Isolat I5 dilakukan dengan metode difusi yaitu menggunakan paperdisk. Sehingga pada cawan petri berisi 4 konsentrasi ekstrak, 1 kontrol positif (tetrakislin) dan 1 kontrol negatif (DMSO 10%).



Gambar 3. Aktivitas ekstrak etil asetat Isolat I5 fungi endofit. Sumbu X: Konsentrasi Ekstrak (%) dan sumbu Y: diameter zona hambat.

Hasil uji aktivitas ekstrak etil asetat Isolat I5 yang disajikan pada Gambar 3 dapat diketahui bahwa Isolat I5 pada konsentrasi 0,5%, 1%, 3% dan 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah 8,59 mm ($\pm 0,30$); 8,62 mm ($\pm 0,49$); 8,96 mm ($\pm 0,36$) dan 9,96 mm ($\pm 0,46$) dan terhadap bakteri *Escherichia coli* berturut-turut adalah 6,75 mm ($\pm 1,29$); 8,28 mm ($\pm 0,16$); 8,96 mm ($\pm 0,27$) dan 9,03 mm ($\pm 0,60$). Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat isolat I5 maka semakin tinggi zona hambat terhadap bakteri uji, hal ini sesuai dengan pernyataan Sudarwati & Sumarni (2016) bahwa semakin pekat ekstrak yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk⁽⁹⁾. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi paling baik dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah konsentrasi 5% dengan diameter zona hambat 9,96 mm ($\pm 0,60$) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 9,03 ($\pm 0,46$) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

SIMPULAN

Profil pertumbuhan optimum isolat I5 *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis yaitu pada hari ke-13. Isolat I5 *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dalam memproduksi metabolit sekunder paling optimum sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu pada medium PDYB pH 8 dengan bobot miselium 899 mg dan didapatkan nilai zona hambat tertinggi pada konsentrasi 5% yaitu 9,96 mm ($\pm 0,60$) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 9,03 ($\pm 0,46$) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Strobel, G., Daisy, B., 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 491–502. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003>
2. Kuncoro, H., Sugijanto, N.E., 2011. Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya Sebagai Sumber Bahan Obat Baru. *J. Trop. Pharm. Chem.* 1, 247–262. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i3.35>
3. Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Shan, T., Zhong, L., Liu, X., Gao, X., 2010. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants 11
4. Utami, H.F., Hastuti, R.B., Hastuti, E.D., 2015. Kualitas Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) pada Suhu Pengeringan Berbeda. *J. Akad. Biol.* 4, 51–59.
5. Ismail, I., Megawati, M., Bakri, N.F., 2019. Exploration Of Endofit Fungus From Binahong Plants (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) As Antibacterial Source. *J. Pharm. Med. Sci.* 3. <https://doi.org/10.32814/jpms.v3i2.68>
6. VanderMolen, K.M., Raja, H.A., El-Elimat, T., Oberlies, N.H., 2013. Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program. *AMB Express* 3, 71. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-3-71>
7. Gandjar, I., Sjamsuridzal, W. dan Oetari, A., 2006, *Mikologi: Dasar dan Terapan*, Yayasan Obor Indonesia: Jakarta.
8. Wardhani, L.K., Sulistyani, N., 2012. ACETATE EXTRACT OF BINAHONG LEAF (*Anredera scandens* (L.) Moq.) AGAINST *Shigella flexneri* WITH 2, 16.
9. Sudarwati, D., W., Sumarni. 2016. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Kelor dan Bunga Rosella. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(1): 11-14.