

**OPTIMASI PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGI  
ENDOFIT DAUN GELAM (*Melaleuca cajuputi* Powell.)  
DENGAN VARIASI SUMBER KARBON, NITROGEN, DAN pH**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sriwijaya

**OLEH**

**ECA DESRIANA ZAHWA**

**08041181722044**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2021**

## **HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI**

Judul Skripsi : Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Gelam (*Melaleuca Cajuputi Powell.*) dengan Variasi Sumber C, N, Dan pH

Nama Mahasiswa : Eca Desriana Zahwa

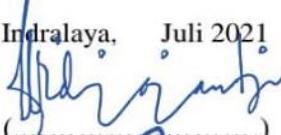
NIM : 08041181722044

Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal : Juli 2021

Pembimbing :

1. Dr. Hary Widjajanti, M.Si

Indralaya, Juli 2021  
  
(.....)

2. Dr. Elisa Nurnawati, S.Si. M.Si

  
(.....)

## **HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL**

Judul Makalah Seminar Hasil : Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Gelam (*Melaleuca Cajuputi Powell.*) dengan Variasi Sumber C, N, Dan pH

Nama Mahasiswa : Eca Desriana Zahwa

NIM : 08041181722044

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 30 Juni 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Pembimbing :

3. Dr. Hary Widjajanti, M.Si

Indralaya, Juli 2021  
(.....)

4. Dr. Elisa Nurnawati, S.Si. M.Si

(.....)  
Elisa Nurnawati  
(.....)

Pembahas :

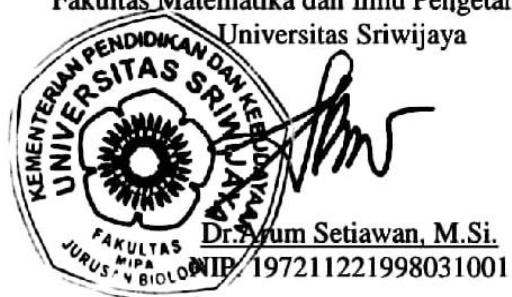
1. Dr. Salni, M.Si

(.....)  
Salni  
(.....)

2. Drs. Juswardi, M.Si.

(.....)  
Juswardi  
(.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sriwijaya



## **PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Eca Desriana Zahwa

NIM : 08041181722044

Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Juli 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Eca Desriana Zahwa".

Eca Desriana Zahwa  
NIM. 08041181722044

## **HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Eca Desriana Zahwa

NIM : 08041181722044

Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

”Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Gelam (*Melaleuca Cajuputi* Powell.) dengan Variasi Sumber C, N, Dan pH”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). dengan hak bebas royalty nonekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/mengformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasi tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya

Indralaya, Juli 2021



Eca Desriana Zahwa  
NIM. 08041181722044

## HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Kelemahan dan kekuatan terbesarku di dunia ini adalah orangtuaku, itulah sebabnya Tuhan menguji dan menyemangatiku melalui mereka.

“Wahai Tuhanku, kasihilah kedua orang tuaku sebagaimana mereka berdua telah mendidik aku waktu kecil”  
(QS. Al-Isra : 24)

**Karya ini saya persembahkan kepada :**

- Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW
- Ketiga Orang Tua Saya ( Ayah, Mama, dan Ibu)
- Adik- Adik Saya (Gadis dan Mumu)
- Keluarga Besar Tercinta
- Sahabat Intelektual Biologi Angkatan 2017
- Seluruh Dosen dan Staf di Jurusan Biologi FMIPA UNSRI
- Universitas Sriwijaya

**Secara khusus saya persembahkan gelar sarjana yang saya peroleh sebagai hadiah untuk mamaku tercinta (Almh.) Herawati yang telah setia mendukungku lewat doa. Mama adalah semangatku setiap proses yang aku jalani. Sunguh, kasih hening yang membuat air mata haru jatuh diam-diam. Karya ini dapat terselesaikan salah satunya karna Mama.**

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Gelam (*Melaleuca Cajuputi* Powell.) dengan Variasi Sumber C, N, Dan pH” dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Terimakasih kepada Ibu Dr. Hary Widjajanti, M.Si dan Ibu Dr. Elisa Nurnawati, S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dedikasi, tentu untuk setiap pesan yang meneduhkan dan meneguhkan hati, bersama ibu setiap proses penyusunan skripsi ini terlewati penuh makna sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Ucapan terimakasih juga penulis haturkan kepada Bapak Dr. Salni, M.Si dan Bapak Drs. Juswardi, M.Si selaku dosen pembahas yang telah mengarahkan serta memberikan tanggapan/pertanyaan cemerlang guna menyempurnakan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan tanpa adanya bantuan dan bimbingan dari semua pihak. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaff, MSCE., selaku Rektor Universitas Sriwijaya.
2. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
3. Bapak Arum Setiawan, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
4. Dr. Sarno, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
5. Bapak Drs. Endri Junaidi, M.Si., selaku Pembimbing Akademik, yang telah memberikan bimbingan dan nasehatnya selama proses perkuliahan.
6. Seluruh staff Bapak/Ibu Dosen serta Karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

7. Ibu Rosmania, S.T., selaku analis Laboratorium Mikrobiologi dan kak Agus Wahyudi, S.Si., selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi yang telah banyak membantu selama penelitian tugas akhir.
8. Kak Andi, Kak Bambang, dan Pak Nanang yang telah membantu proses administrasi selama perkuliahan.
9. Adik-adikku tercinta (Eliza Oktarina Zahwa dan Muhammad Fahrurrozi) terimakasih telah diam-diam bedoa untuk kesuksesanku dan yang telah memberikan semangat lewat sebuah pertanyaan yang selalu terlontar “kapan wisuda?” tetap kusayangi kalian berdua para juara satu disegmen yang berbeda.
10. Sahabat-sahabatku (Aulia dinda, Cici Fitriana, Dea Afni, Emerda khairati, Egi Nara, Nevia Wulandari, Shintya Anggrayni, Ulil Sarifatul, Wardah ningsih, Wijaya Kusuma, Yahya Muhammin dan Syedzar Alghifari) terimakasih atas kasih hangat dan diskusi tidak formal yang selalu kita lakukan dalam memaknai perkuliahan ini.
11. Muhammad Romadhoni Dhiya’ulhaq Falahudin yang senantiasa memberikan bantuan tanpa pamrih dalam setiap kesulitan yang penulis hadapi.
12. Almamater, terkhusus untuk angkatan 2017 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, terima kasih atas segala dukungan dan kebersamaan selama perkuliahan.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini sehingga dapat selesai dengan baik.  
Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan karunia-Nya dan membala segala amal dan kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penyusunan skripsi. Harapan penulis, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak, baik bagi pembaca umumnya dan khususnya bagi penulis sendiri.

Indralaya, Juli 2021



Penulis

**OPTIMIZATION FOR PRODUCTION OF SECONDARY METABOLITES  
ENDOPHYTIC FUNGUS IN GELAM LEAVES (*Melaleuca cajuputi* Powell.)  
WITH VARIATIONS OF C, N, AND pH SOURCES**

**Eca Desriana Zahwa  
NIM.08041181722044**

**RESUME**

Secondary metabolites isolates DM2IA and DM1IIB of endophytic fungi in Gelam leaves (*Melaleuca cajuputi* Powell.) have antibacterial and antioxidant activity potential with secondary metabolite compounds in the form of flavonoids and phenols. The low production of secondary metabolites produced at the cultivation stage and high potential activity of bioactive compounds produced by isolates DM2IA and DM1IIB of the endophytic fungi of Gelam leaves require special treatment for optimization production of secondary metabolites. Increasing the productivity of secondary metabolites can be done by optimizing the composition of the cultivation media. Differences in the use of carbon, nitrogen, and pH ranges in cultivation media will result in different amounts and profiles of secondary metabolites, finding the most optimal conditions in the production process of secondary metabolites from endophytic fungi isolates DM2IA dan DM1IIB is the basis for the importance of optimizing media composition at the cultivation stage. This research was carried out to determine the best source of carbon, nitrogen, and pH range in increasing the production of secondary metabolites of DM2IA and DM1IIB isolates of Gelam leaf endophytic fungi by obtaining the optimum values of three factors that were optimized using Response Surface Methodology (RSM) and to determine the class of secondary metabolites produced. through changes in the composition of the cultivation medium. The research stages consisted of propagation of endophytic fungi, cultivation stages with variations in carbon sources, nitrogen and pH ranges, extraction, optimization of media components using Response Surface Methodology (RSM), identification of secondary metabolite content resulting from optimization using TLC test. The research was carried out from October 2020 to April 2021 at the Microbiology Laboratory and the Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya.

Based on the research that has been done, it can be seen that the DM2IA isolate of endophytic fungi produced the most optimum weight of secondary metabolite extract after the use of carbon source in the form of dextrose, nitrogen source in the form of peptone, and an optimum pH range of 5 and the DM1IIB isolate of endophytic fungi produced the most optimum weight of secondary metabolite extract after use. carbon source sucrose, nitrogen source in the form of yeast extract, and optimum pH range 6. The use of nitrogen sources in the form of peptone

showed a significant effect on the production secondary metabolites of DM2IA isolates. The use of a carbon source in the form of sucrose showed a significant effect on the production secondary metabolites of DM1IIB isolate. Optimization of the fermentation medium was carried out using Response Surface Methodology determining the use of dextrose, peptone, and pH concentrations of 4.027 g L-1, 0.550 g L-1, pH 5.1 with the secondary metabolite response of the DM2IA isolate obtained was 0.388 g and the use of sucrose, yeast extract, and pH concentrations of 4.5 g L-1, yeast extract 0.48 g L-1 and pH 6.1 resulted in the secondary metabolite response of the DM1IIB isolate obtained was 0.34 g. Chromatogram profile of the secondary metabolite extract of isolates DM2IA and DM1IIB was identified by color of stains containing flavonoid, phenols, terpenoids, and tannins. Groups of compounds phenolic and flavonoids isolates DM2IA and DM1IIB that have potential as antioxidants.

**Keywords:** Secondary Metabolites, Endophytic Fungi, *Melaluca cajuputi* Powell., Optimization Medium, Response Surface Methodology (RSM)

**Refferences : 79 (1978 - 2020)**

**OPTIMASI PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGI ENDOFIT  
DAUN GELAM (*Melaleuca cajuputi* Powell.) DENGAN VARIASI SUMBER  
C, N, DAN pH**

**Eca Desriana Zahwa  
NIM.08041181722044**

**RINGKASAN**

Metabolit sekunder Isolat DM2IA dan DM1IIB fungi endofit daun Gelam (*Melaluca cajuputi* Powell.) memiliki potensi aktivitas antibakteri dan antioksidan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenol. Rendahnya produksi metabolit sekunder yang dihasilkan pada tahap kultivasi dan tingginya potensi aktivitas senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan DM1IIB fungi endofit daun Gelam dalam hal ini diperlukan perlakuan khusus untuk produksi metabolit sekunder yang optimal. Peningkatan produktivitas senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan melakukan optimasi komposisi media kultivasi. Perbedaan pemakaian sumber karbon, nitrogen, dan kisaran pH pada media kultivasi akan menghasilkan jumlah dan golongan metabolit sekunder yang berbeda, mencari kondisi paling optimal dalam proses produksi metabolit sekunder dari isolat fungi endofit menjadi dasar pentingnya dilakukan optimasi komposisi media pada tahap kultivasi. Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui sumber karbon, nitrogen dan kisaran pH terbaik dalam peningkatan produksi metabolit sekunder isolat DM2IA dan DM1IIB fungi endofit daun Gelam dengan mendapatkan nilai optimum dari tiga faktor yang dioptimasi menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) serta mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui perubahan komposisi media kultivasi. Tahapan penelitian yang dilakukan terdiri atas propagasi fungi endofit, tahapan kultivasi dengan variasi sumber karbon, nitrogen dan kisaran pH, ekstraksi, optimasi komponen media menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM), identifikasi kandungan metabolit sekunder hasil optimasi menggunakan uji KLT. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 sampai April 2021 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa, isolat DM2IA fungi endofit menghasilkan berat ekstrak metabolit sekunder paling optimum setelah pemakaian sumber karbon berupa dextrosa, sumber nitrogen berupa pepton dan kisaran pH optimum 5 dan Isolat DM1IIB fungi endofit menghasilkan berat ekstrak metabolit sekunder paling optimum setelah pemakaian sumber karbon sukrosa, sumber nitrogen berupa *yeast extract* dan kisaran pH optimum 6. Pemakaian sumber nitrogen berupa pepton menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap produksi metabolit sekunder isolat DM2IA. Pemakaian sumber karbon berupa sukrosa menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap produksi metabolit sekunder isolat DM1IIB. Optimasi medium fermentasi dilakukan dengan menggunakan *Response Surface Methodology* menentukan pemakaian konsentrasi dextrosa, pepton dan pH berturut-turut sebesar  $4,027 \text{ g L}^{-1}$ ,  $0,550 \text{ g L}^{-1}$ , pH 5,1 dengan respon metabolit sekunder isolat DM2IA yang diperoleh adalah sebesar

0,388 g dan pemakaian konsentrasi Sukrosa, *yeast extract*, dan pH berturut-turut sebesar 4,5 g L<sup>-1</sup>, *yeast extract* 0,48 g L<sup>-1</sup> dan pH 6,1 menghasilkan respon metabolit sekunder isolat DM1IIB yang diperoleh adalah sebesar 0,34 g. Profil kromatogram ekstrak metabolit sekunder isolat DM2IA dan DM1IIB hasil optimasi diidentifikasi melalui bercak noda mengandung senyawa flavonoid, fenol, terpenoid dan tanin. Golongan senyawa fenol dan flavonoid isolat DM2IA dan DM1IIB memiliki potensi sebagai antioksidan.

**Kata kunci :** Metabolit Sekunder, Fungi Endofit, *Melaluca cajuputi* Powell., Medium Optimasi, *Response Surface Methodology* (RSM)

**Kepustakaan : 79 (1978-2020)**

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL .....</b>	<b>iii</b>
<b>PENYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>ix</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xix</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>9</b>
2.1. Tinjauan Tumbuhan Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.).....	9
2.1.1. Deskripsi dan Klasifikasi Tumbuhan Gelam .....	9
2.1.2. Morfologi Tumbuhan Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.).....	10
2.1.3. Manfaat Tumbuhan Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.).....	11

2.2. Fungi Endofit.....	13
2.2.1. Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) .....	14
2.3. Metabolit Sekunder pada Fungi .....	15
2.4. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Metabolit Sekunder...	16
2.4.1. Pengaruh Sumber Karbon .....	17
2.4.2. Pengaruh Sumber Nitrogen .....	19
2.4.3. Pengaruh Derajat Keasaman (pH).....	21
2.5. Metode Optimasi .....	22
2.5.1. Optimasi Produksi dengan <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	
.....	22
2.5.2. Optimasi Produksi Dengan <i>One Factor of The Time</i> (OFAT).....	23
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>24</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	24
3.2. Alat dan Bahan .....	24
3.3. Cara Kerja .....	24
3.3.1. Pembuatan Medium dan Sterilisasi Alat Bahan.....	24
3.3.2. Propagasi Fungi Endofit.....	25
3.3.3. Tahap Kultivasi Fungi Endofit.....	25
3.3.3.1. Pemilihan Sumber Karbon Terbaik.....	25
3.3.3.2. Pemilihan Sumber Nitrogen Terbaik.....	26
3.3.3.3. Pemilihan Konsentrasi pH terbaik.....	27
3.3.4. Ekstraksi Uji Pertama Metabolit Sekunder Fungi Endofit.....	28
3.3.5. Optimasi Komponen Media Kultivasi dengan RSM.....	28
3.3.6. Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Hasil Optimasi .....	29

3.3.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji Penyemprotan DPPH ....	29
3.3.8. Variabel Pengamatan.....	31
3.3.9. Penyajian Data.....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>32</b>
4.1. Sumber Karbon Terbaik Isolat DM2IA dan DM1IIB .....	32
4.2. Sumber Nitrogen Terbaik Isolat DM2IA dan DM1IIB .....	36
4.3. Kisaran pH Terbaik Isolat DM2IA dan DM1IIB .....	39
4.4. Hasil Optimasi Media Kultivasi Isolat DM2IA .....	42
4.4.1. Rancangan Perlakuan Optimasi Isolat DM2IA .....	42
4.4.2. Model Respon Isolat DM2IA .....	44
4.4.3. Hasil Analisis Ragam (ANOVA) dan Interaksi Antara Faktor Terhadap Respon Isolat DM2IA .....	44
4.4.4. Formulasi Medium Optimasi Isolat DM2IA .....	50
4.5. Hasil Optimasi Media Kultivasi Isolat DM1IIB .....	51
4.5.1. Rancangan Perlakuan Optimasi Isolat DM1IIB .....	51
4.5.2. Model Respon Isolat DM1IIB .....	53
4.5.3. Hasil Analisis Ragam (ANOVA) dan Interaksi Antara Faktor Terhadap Respon Isolat DM1IIB .....	55
4.5.4. Formulasi Medium Optimasi Isolat DM1IIB .....	59
4.6. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji DPPH Ekstrak Metabolit Sekunder Hasil Optimasi Isolat DM2IA dan DM1IIB .....	60
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>67</b>
5.1. Kesimpulan.....	67

5.2. Saran.....	68
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>67</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>77</b>
<b>BIODATA PENULIS.....</b>	<b>98</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4.1.</b> Komposisi Medium Optimasi Fungi Endofit Isolat DM2IA Dan Informasi Kisaran dan Taraf Faktor yang Diuji.....	42
<b>Tabel 4.2.</b> Berat Ekstrak Dari Isolat DM2IA Hasil Optimasi Media Kultivasi Dengan 3 Faktor Menggunakan RSM.....	43
<b>Tabel 4.3.</b> Formula Komposisi Medium Optimasi Isolat DM2IA Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Meleuca cajuputi Powell.</i> ) .....	50
<b>Tabel 4.4.</b> Komposisi Medium Optimasi Fungi Endofit Isolat DM1IIB dan Informasi Kisaran dan Taraf Faktor Yang Diuji pada Optimasi .....	51
<b>Tabel 4.5.</b> Berat Ekstrak Dari Isolat DM2IA Hasil Optimasi Media Kultivasi Dengan 3 Faktor Menggunakan RSM.....	52
<b>Tabel 4.6.</b> Formula Komposisi Medium Optimasi Isolat DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Meleuca cajuputi Powell.</i> ) .....	59
<b>Tabel 4.7.</b> Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji DPPH Ekstrak Metabolit Sekunder Isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Meleuca cajuputi Powell.</i> ).....	62

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 4.1.</b> Pengaruh Pemberian Sumber Karbon Berbeda Terhadap Berat Ekstrak dan Biomassa Selama Kultivasi 30 Hari .....	32
<b>Gambar 4.2.</b> Pengaruh Pemberian Sumber Nitrogen Berbeda Terhadap Berat Ekstrak dan Biomassa Selama Kultivasi 30 Hari .....	36
<b>Gambar 4.3.</b> Pengaruh Pemberian Variasi pH Berbeda Terhadap Berat Ekstrak dan Biomassa Selama Kultivasi 30 Hari .....	39
<b>Gambar 4.4.</b> Grafik 3D-Surface Respon Permukaan dan Kontur Respon Permukaan isolat DM2IA Fungi Endofit Daun Gelam (Meleuca cajuputi Powell.).....	47
<b>Gambar 4.5.</b> Grafik 3D-Surface Respon Permukaan dan Kontur Respon Permukaan isolat DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam (Meleuca cajuputi Powell.) .....	57
<b>Gambar 4.6.</b> Analisis KLT dan Penyemprotan DPPH Ekstrak Metabolit Sekunder isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam (Meleuca cajuputi Powell.).....	61
<b>Gambar 4.7.</b> Mekanisme Biosintesis Senyawa Terpenoid Melalui Jalur Asam..	65
<b>Gambar 4.8.</b> Mekanisme Biosintesis Senyawa Tanin Melalui Jalur Asam Sikimat .....	66

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Komposisi Medium .....	77
<b>Lampiran 2.</b> Pembuatan Medium Optimasi Isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) .....	80
<b>Lampiran 3.</b> Hasil Kultivasi Metabolit Sekunder Isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) Selama 30 Hari .....	81
<b>Lampiran 4.</b> Ekstraksi Metabolit Sekunder Isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) .....	87
<b>Lampiran 5.</b> Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji DPPH Ekstrak Metabolit Sekunder Hasil Optimasi Isolat DM2IA dan DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Meleuca cajuputi</i> Powell.) .....	89
<b>Lampiran 6.</b> Berat Ekstrak Dan Standar Deviasi Isolat DM2IA Berdasarkan Pemilihan Sumber Karbon, Nitrogen Dan pH .....	91
<b>Lampiran 7.</b> Berat Ekstrak Dan Standar Deviasi Isolat DM1IIB Berdasarkan Pemilihan Sumber Karbon, Nitrogen Dan Ph .....	92
<b>Lampiran 8.</b> Respon Hasil Optimasi Proses Produksi Metabolit Sekunder Isolat DM2IA Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) .....	93
<b>Lampiran 9.</b> Respon Hasil Optimasi Proses Produksi Metabolit Sekunder Isolat DM1IIB Fungi Endofit Daun Gelam ( <i>Melaleuca cajuputi</i> Powell.) .....	94
<b>Lampiran 10.</b> Jumlah Kuadrat Beberapa Model Yang Dicobakan Untuk Proses Optimasi Medium Fermentasi .....	95
<b>Lampiran 11.</b> Data Hasil Analisis Beberapa Model Yang Dicobakan Dalam Optimasi Medium Kultivasi Metabolit Sekunder .....	96
<b>Lampiran 12.</b> Analisis Keragaman (ANOVA) pada Proses Optimasi Medium Kultivasi Untuk Produksi Metabolit Sekunder .....	

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Produk farmasetik sekitar 60% berasal dari tumbuhan yang didapatkan melalui ekstraksi senyawa metabolit sekunder dalam proses fisiologis (Kusbiantoro dan Purwaningrum, 2018). Biosintesis metabolit sekunder tumbuhan dapat diekstraksi dari seluruh bagian pada tumbuhan (Isah, 2019). Diversitas tumbuhan yang berpotensi dijadikan sebagai penghasil produk farmasetik, salah satunya adalah tumbuhan Gelam (Yamanoshita *et al.*, 2001). Metabolit sekunder tumbuhan Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell.) memiliki potensi sebagai antiseptik, antiinflamasi, produk perawatan kulit (Kassim *et al.*, 2012) dan memiliki aktivitas antibakteri (Al Abd *et al.*, 2015).

Isolasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan membutuhkan waktu yang relatif lama dengan pengambilan sampel yang bersifat destruktif (Haniah, 2008). Eksplorasi berlebih dapat mengancam kelestarian tumbuhan tersebut. Maka dari itu produksi metabolit sekunder dari suatu tumbuhan dapat dilakukan dengan alternatif pengganti dengan pemanfaatan fungi endofit. Fungi endofit yang berhasil diisolasi dari suatu tumbuhan diduga juga memiliki kemampuan untuk dapat memproduksi jenis senyawa metabolit sekunder yang mirip seperti tumbuhan inangnya (Tan dan Zou, 2001).

Fungi endofit adalah fungi yang mampu hidup di dalam bagian jaringan tumbuhan pada masa tertentu dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan. Fungi endofit dapat tumbuh pada jaringan tumbuhan memiliki

kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya. Hal ini terjadi karena adanya proses transfer genetik antara fungi endofit dengan tumbuhan inangnya dan kemudian mengalami proses koevolusi (Jeffrey *et al.*, 2008). Berdasarkan penelitian Nastiti (2019) dan Pertiwi (2019) fungi endofit daun Gelam yang telah terisolasi terdapat sebanyak 6 isolat fungi. Isolat fungi endofit daun Gelam memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan, Berdasarkan uji antibakteri terdapat 4 isolat fungi endofit daun Gelam yang memiliki aktivitas senyawa antibakteri yaitu isolat DM3IB, DM1IIB, DM1I, dan DT3IA, lalu berdasarkan uji aktivitas antioksidan terdapat 3 isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas senyawa antioksidan yaitu DM2IA, DT1IB, dan DT3IA.

Sebanyak 4 isolat fungi endofit daun Gelam yang memiliki senyawa antibakteri. Isolat DM2IA memiliki potensi aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> paling rendah yakni sebesar 8,12 µg/mL mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang dideteksi melalui uji KLT. Ekstrak metabolit yang dihasilkan sebesar 0,24 gram dengan biomassa fungi 1,40 gram (Pertiwi, 2019). Isolat DM1IIB memiliki potensi aktivitas antibakteri paling tinggi dengan kandungan senyawa flavonoid dan fenol melalui uji KLT. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak metabolit sekunder isolat DM1IIB terhadap bakteri uji *Escherichia coli* yaitu 100 µg/mL ekstrak metabolit yang dihasilkan memiliki berat 0,30 gram dengan biomassa 2,34 gram (Nastiti, 2019).

Rendahnya produksi metabolit sekunder yang dihasilkan pada tahap kutivasi dan tingginya potensi aktivitas senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB dalam hal ini diperlukan perlakuan khusus untuk produksi

metabolit sekunder. Peningkatan hasil senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan optimasi komposisi media kultivasi. Perbedaan komposisi media kultivasi yang digunakan akan menghasilkan jumlah metabolit yang berbeda, mencari kondisi paling optimal dalam proses pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder dari isolat menjadi dasar pentingnya dilakukan optimasi media kultivasi (Saryono *et al.*, 2016). Salah satu cara yang tepat dilakukan dalam memodifikasi faktor fisik dan lingkungan pada proses kultivasi ialah dengan modifikasi sumber karbon, nitrogen, dan pH (Septiana *et al.*, 2017).

Sumber karbon merupakan nutrisi pokok yang penting bagi fungi yang digunakan sebagai struktur utama dalam penyediaan energi untuk pertumbuhan sel dalam proses metabolisme (Moore, 1972). Pemilihan sumber karbon glukosa, dextrosa, dan sukrosa juga menjadi penting untuk diteliti dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder isolat DM2IA dan isolat DM1IIB fungi endofit daun Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell.)

Penelitian sebelumnya berdasarkan penggunaan sumber karbon glukosa optimum untuk produksi senyawa antimikroba dari *Fusarium oxysporum* (Saryono *et al.*, 2016) dan meningkatkan produksi metabolit sekunder berupa beauvericin pada isolat *Fusarium oxysporum* (Lee *et al.*, 2008) dan *Fusarium rodolens* (Xu *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Merlin *et al.* (2013) penggunaan dektrosa meningkatkan produksi metabolit sekunder dari isolat *Fusarium solani*. Hal ini juga terjadi pada penelitian Rebbapragada dan Kalyanaraman (2016) bahwa, senyawa metabolit potensial sebagai antioksidan mengalami peningkatan pada *Xylaria feejeensis* berdasarkan pemakaian jenis karbon dektrosa. Biosintesis

senyawa flavonoid paling tinggi terdapat setelah pemakaian dektrosa sebagai sumber karbon pada isolat fungi *Aspergillus tamarii* (Bose *et al.*, 2019).

Fungi endofit *Fusarium rodolens* memproduksi senyawa metabolit berupa taxol melalui optimasi sumber karbon Sukrosa (Garyali *et al.*, 2014). Sukrosa sebagai sumber karbon juga sangat mempengaruhi pembentukan senyawa antimikroba pada fungi endofit dari tumbuhan *Moringa oleifera* (Arora dan Kaur, 2019) dan fungi *Penicillium* spp. dalam produksi senyawa antioksidan (Arora *et al.*, 2012). Hal itu juga ditunjuk dalam pemakaian sukrosa sebagai sumber karbon pada *Fusarium oxysporum* menunjukkan kondisi paling optimum dalam pembentukan senyawa metabolit berupa enniatins (Lee *et al.*, 2010) dan fungi endofit asal akar kunyit memproduksi senyawa antioksidan paling tinggi setelah pemakaian jenis karbon sukrosa (Septiana dan Simanjuntak, 2017),

Sumber nitrogen merupakan komponen utama dalam suatu media kultur yang dibutuhkan fungi untuk proses pertumbuhan sel (Zuhri *et al.*, 2013). Setiap organisme memiliki kondisi optimal yang berbeda dalam penggunaan nitrogen untuk proses metabolisme. Tidak semua fungi membutuhkan nitrogen dalam bentuk yang sama untuk menunjang proses metabolisme (Moore, 1972). Oleh karena itu pemilihan jenis nitrogen harus dilakukan untuk mengoptimalkan produksi metabolit sekunder dari isolat DM2IA dan isolat DM1IIB fungi endofit daun Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell.). Jenis nitrogen yang dipakai dalam pemilihan sumber nitrogen terbaik ialah *yeast extract*, pepton, dan sodium nitrat. Berdasarkan pemilihan sumber nitrogen, *yeast extract* dan pepton merupakan salah satu sumber nitrogen organik dan sodium nitrat mewakili sumber nitrogen anorganik.

Berdasarkan pemilihan sumber nitrogen yang dilakukan pada penelitian Merlin *et al.* (2013) penggunaan *yeast extract* meningkatkan produksi metabolit sekunder dari isolat *Fusarium solani*. Pada beberapa penelitian menyatakan bahwa, fungi endofit asal akar kunyit memproduksi senyawa antioksidan paling tinggi setelah pemakaian jenis nitrogen berupa *yeast extract* (Septiana dan Simanjuntak, 2017). Sumber nitrogen berupa pepton sangat mempengaruhi pembentukan pembentukan senyawa metabolit sekunder pada *Fusarium miniliforme* (Pradeep dan Pradeep, 2013). Sedangkan pemakaian sodium nitrat sangat mempengaruhi pembentukan senyawa antimikroba pada fungi endofit *Moringa oleifera* (Arora dan Kaur, 2019) dan fungi *Penicillium* spp. dalam produksi senyawa antioksidan (Arora *et al.*, 2012).

pH berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur, mulai dari pertumbuhan miselium ataupun pertumbuhan tubuh buah. pH akan mempengaruhi permeabilitas pada membran fungi, oleh karena itu fungi menjadi tidak mampu menyerap nutrisi yang penting pada saat pH tertentu yang tidak sesuai. Terhambatnya proses pengambilan nutrisi maka akan mempengaruhi proses laju metabolisme fungi. Penentuan pH yang tepat untuk menghasilkan produksi metabolit sekunder yang optimal perlu dilakukan (Gunawan, 2004).

Pertumbuhan terbaik fungi terlihat pada kisaran pH 5-8 (Gupta *et al.*, 2010). Hal itu juga disebutkan dalam beberapa penelitian mengenai produksi metabolit sekunder pada kelompok fungi bahwa, *Fusarium incarnatum* memproduksi pigmen paling optimum pada pH 5 (Himalini dan Razia, 2018) dan fungi endofit asal akar kunyit memproduksi senyawa antioksidan paling tinggi pada pH 5

(Septiana dan Simanjuntak, 2017), sedangkan pada pH 6 senyawa metabolit sekunder diproduksi paling optimum pada fungi *Geosmithia pallida* (Deka dan Jha, 2018) dan *Fusarium solani* (Merlin *et al.*, 2013). Kondisi pH 7 sangat mempengaruhi pembentukan senyawa antimikroba pada fungi endofit *Moringa oleifera* (Arora dan Kaur, 2019) sedangkan pada pH 8 sangat mempengaruhi pembentukan pigmen naphthoquinones pada *Fusarium Verticilioides* (Boonyaprana *et al.*, 2008).

Optimasi media kultivasi dapat dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). RSM digunakan untuk mendapat nilai optimum dari penggunaan faktor yang dipakai. Metode ini juga dibuat untuk menganalisa suatu respon pembentukan metabolit sekunder yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas atau faktor optimasi guna mengoptimalkan respon yang diteliti (Qiu *et al.*, 2012). Dalam menentukan apa saja golongan senyawa aktif yang telah dioptimasi dari ekstrak fungi endofit daun Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell.) maka dapat dilakukan analisis menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Rusnaeni *et al.*, 2016).

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian sumber karbon, nitrogen, dan pH yang berbeda terhadap berat ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB?

2. Bagaimana pengaruh adanya interaksi ketiga faktor yaitu sumber karbon, nitrogen, dan pH terhadap berat ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM) ?
3. Berapa nilai optimum dari interaksi ketiga faktor dalam menghasilkan ekstrak metabolit sekunder oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM) ?
4. Apa saja jenis golongan senyawa aktif dan identifikasi potensi ekstrak sebagai antioksidan dari hasil optimasi isolat fungi DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan penyemprotan DPPH ?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini terdiri sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian sumber karbon, nitrogen, dan pH yang berbeda terhadap berat ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB.
2. Menganalisis pengaruh adanya interaksi ketiga faktor yaitu sumber karbon, nitrogen, dan pH terhadap berat ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM)
3. Mengetahui nilai optimum dari interaksi ketiga faktor dalam menghasilkan ekstrak metabolit sekunder oleh isolat DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM)

5. Mengetahui jenis golongan senyawa aktif dan identifikasi potensi ekstrak sebagai antioksidan dari hasil optimasi isolat fungi DM2IA dan isolat DM1IIB berdasarkan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan penyemprotan DPPH

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai sumber karbon, nitrogen, pH yang optimal dalam proses kultivasi untuk memproduksi metabolit sekunder dari isolat DM2IA dan isolat DM1IIB fungi endofit diisolasi dari tumbuhan Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell) yang memiliki berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abo-Elmag, H.I. 2014. Evaluation and Optimization Of Antioxidant Potentially Of *Chaetomium madrasense* AUMC 9376. *Journal Genetic Engineer Biotechnol.* 12 (1) : 21-26.
- Agusta, A. 2006. Diversitas Jalur Biosintesis Senyawa Terpena Pada Makhluk Hidup Sebagai Target Obat Anttinfektif. *Berita Biologi.* 8(2): 141-152.
- Agusta, A., Ohashi, K., dan Shibuya, H. 2006. Bisanthraquinone Metabolites Produce By The Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. *Chemical and pharmaceutical bulletin.* 54 (4) :579-582.
- Aharonowitz, Y.1980. Nitrogen metabolite regulation of antibiotic biosynthesis. *Ann Rev Microbiol.* 34:209-33.
- Ahmad, A. R., Juwita, J., dan Ratulangi, S. A. D. 2015. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (Etlingera elatior (Jack) RM SM). *Pharmaceutical Sciences & Research.* 2(1): 1.
- Al Abd, N.M., Zurainee, M.N., Marzida, M., Fadzly, A., M.S. Hasan., and Mustafa, K. 2015. Antioxidant, Antibacterial Activity, and Phytochemical Characterization of *Melaleuca cajuputi* Extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 15(385): 1-13.
- Apriliana, D., Widayat, W., dan Rusli, R. 2016. Isolasi Jamur Endofit Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian.* 72-77.
- Arora, D. S., dan Chandra, P. 2010. Assay of Antioxidant Potential of Two *Aspergillus* sp. Isolates By Different Methods Under Various Physio-Chemical Conditions. *Brazilian Journal of Microbiology.* 41(3) : 765-777.
- Arora, D. S., dan Kaur, N. 2019. Antimicrobial potential of fungal endophytes from *Moringa oleifera*. *Applied biochemistry and biotechnology,* 187(2), 628-648.
- Arora, D.S., Chandra, P., Dan Kaur, G.J. 2012. Optimization And Assay Of Antioxidant Potential Of Two *Penicillin* By Different Procedures. *Current Biotechnology.* 1(1):2-10
- Baş, D., dan Boyacı, I. H. 2007. Modeling and optimization I: Usability of Response Surface Methodology. *Journal of food engineering.* 78(3): 836-845.

- Boonyapranaik, K., Tungpradit, R., Lhieochaiphant, S., dan Phutrakul, S. 2008. Optimization of submerged culture for the production of naphthoquinones pigment by *Fusarium verticillioides*. *Chiang Mai J. Sci.* 35(3): 457-466.
- Bose, P., Gowrie, S. U., dan Chathurdevi, G. 2019. Optimization of Culture Conditions for Growth and Production of Bioactive Metabolites by Endophytic Fungus—*Aspergillus tamarii*. *International Journal of Pharmacy and Biological Science*. 9(2): 469-478
- Brakhage, A. A. (2013). Regulation of Fungal Secondary Metabolism. *Nature Reviews Microbiology*. 11(1): 21-32.
- Deka, D., dan Jha, D. K. 2018. Optimization of culture parameters for improved production of bioactive metabolite by endophytic *Geosmithia pallida* (KU693285) isolated from *Brucea mollis* Wall ex. Kurz, an endangered medicinal plant. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 12(3): 1205-1213.
- Doran, J. C., Baker, G. R., Williams, E. R., Dan Southwell, I. A. 2006. Genetic Gains In Oil Yields After Nine Years Of Breeding *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 49(11) : 521-1527.
- Forestryana, D., dan Arnida, A. 2020. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydroleia spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 11(2): 113-124.
- Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., Dan Hirai, Y. 2004. Antibacterial Activity Of Hydrolyzable Tannins Derived From Medicinal Plants Against Helicobacter Pylori. *Microbiology and immunology*. 48(4) : 251-261.
- Garyali, S., Kumar, A., dan Reddy, M. S. 2014. Enhancement Of Taxol Production From Endophytic Fungus *Fusarium redolens*. *Biotechnology And Bioprocess Engineering*, 19(5), 908-915.
- Gazi, M.R., dan Kanda. K. 2004. Optimization Of Cultural Conditions And Some Properties Of Radicalscavenging Substances From Sporobolomyces Salmonicolor. *Journal Of Biological Sciences*. 7(8) :1365-1370.
- Gunawan, A. W. 2004. *Budidaya Jamur Tiram*. PT. Agro Media Pustaka : Depok.
- Guo, Y. J., Krauss, S., Senne, D. A., Mo, I. P., Lo, K. S., Xiong, X. P., dan Guan, Y. 2000. Characterization Of The Pathogenicity Of Members Of The Newly Established H9N2 Influenza Virus Lineages In Asia. *Virology*. 267(2) : 279-288.

- Hai, H. N. T., Rimbawanto, A., Kartikawati, N. K., dan Wu, H. 2019. Genetic Improvement For Essential Oil Yield And Quality In *Melaleuca cajuputi*. *Industrial Crops and Products*. 137 : 681-686.
- Haniah, M. 2008. Isolasi jamur endofit dari daun sirih (*Piper betle L.*) sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, *Disertasi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., dan Rijai, L. 2015. Isolasi Jamur Endofit Dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis L.*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(4): 146-153.
- Hariati, S., Wahyuningrum. D., Yuhana, M., Tarman, K., Effendi, I., dan Saputra, F. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kapang Laut Nodulisporium Sp. KT29 Terhadap Vibrio Harveyi. *JPHPI*. 21(2) :250-257.
- Harbone, J.B. 1990. Metode Fitokimia. Penerbit ITB : Bandung.
- Hernawan, U. E., dan Setyawan, A. D., 2003. Review: Ellagitanin; biosintesis, isolasi, dan aktivitas biologi. *Biofarmasi*. 1(1): 25-38.
- Himalini, S., Dan Razia, M. 2018. Optimization Of Pigment Production In *Fusarium incarnatum*. *IJ RAR*. 5(4):450-460.
- Huda, N., Imaningsih, W., dan Hakim, S. S. 2019. Uji Antagonisme Kapang Endofit Tumbuhan Galam (*Melaleuca cajuputi*) terhadap *Colletotrichum truncatum*. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 3(2). 59-74.
- Isah, T. 2019. Stress And Defense Responses In Plant Secondary Metabolites Production. *Biological Research*.52 (1): 39-45.
- Jeffrey, L.S.H., Son, R., dan Tosiah, T. 2008. Preliminary Screening Of Endophytic Fungi Isolated From Medicinal Plant at MARDI Sessang, Sarawak For Their Bioactivity. *Journal Tropical Agric Dan Food Science*. 36(1) : 121-126
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R., dan Vetter, H. 2003. Anti-Inflammatory Activity Of 1.8-Cineol (Eucalyptol) In Bronchial Asthma: A Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Respiratory medicine*.97(3): 250-256.
- Kartikawati, N.K., Rimbawanto, A., Susanto, M., Baskorowati, L., dan Prastyono. 2014. *Budidaya dan Prospek Pengembangan Kayu Putih (Melaleuca cajuputi)*. IPB Press : Jakarta.
- Kassim, M., Yusoff, K. M., Ong, G., Sekaran, S., Yusof, M. Y. B. M., dan Mansor, M. 2012. Gelam Honey Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Endotoxemia In Rats Through The Induction Of Heme Oxygenase-1 And The Inhibition

- Of Cytokines, Nitric Oxide, And High-Mobility Group Protein B1. *Fitoterapi*. 83(6): 1054-1059.
- Kumale, S. 2019. Antioxidant activity of secondary metabolites of endophytic fungi of Dayak onion plants (*Eleutherine americana* (Aubt) Merr.) in in vitro. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 11(2): 65-73.
- Kusbiantoro, D., dan Purwaningrum, Y. 2018. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan Kunyit Dalam Mendukung Peningkatan Pendapatan Masyarakat. *J Kultivasi* 17(1): 544-549.
- Lee, H. S., Song, H. H., Ahn, J. H., Shin, C. G., Lee, G. P., dan Lee, C. 2008. Statistical optimization of growth medium for the production of the entomopathogenic and phytotoxic cyclic depsipeptide beauvericin from *Fusarium oxysporum* KFCC 11363P. *Journal of microbiology and biotechnology*, 18(1), 138-144.
- Liu, J. 1995. Pharmacology Of Oleanolic Acid And Ursolic Acid. *Journal of ethnopharmacology*. 49(2): 57-68.
- Mansur, I., dan Kadaraisman, M. I. 2019. Teknik Pembibitan Kayu Putih (*Melaluca cajuputi*) Secara Vegetatif di Persemaian Perusahaan Batubara PT Bukit Asam (Persero) Tbk. *Silvikultur Tropika-Journal of Tropical Silviculture Science and Technology*.10(1) : 21-28.
- Mao, X.B., Eksriwong, T., Chauvatcharin, S., dan Zhong, J.J. 2005. Optimization of Carbon Source and Carbon/Nitrogen Ratio for Cordycepin Production by Submerged Cultivation of Medicinal Mushroom *Cordyceps Militaris*. *Process Biochemistry*. 40 (5): 1667–1672.
- Martin, J.F., dan Demain, A.L. 1980. Control of antibiotic biosynthesis. 1980. *Microbiol Rev*. 230-251
- Mason RL, Gunst RF, Hess JL. 1989. *Statistical design and analysis of experiments with applications to engineering and sciences*. New York: John Wiley & Sons.
- Merlin, J. N., Christudas, I. V. S. N., Kumar, P. P., dan Agastian, P. 2013. Optimization Of Growth And Bioactive Metabolite Production: *Fusarium solani*. *Asian J Pharm Clin Res*. 6(3): 98-103.
- Misbachudin, M., dan Nur, R. 2020. Pengaruh Persentase Campuran Kulit Kayu Gelam (*Melaleuca Cajuputi*) Dan Cangkang Karet (*Hevea Brasiliensi*) Terhadap Karakteristik Pembakaran Briket. *Turbo: Jurnal Program Studi Teknik Mesin*, 9(1) : 34-47.

- Mohd, S. N., Majid, N. M., Shazili, N. A. M., dan Abdu, A. 2013. Assessment of *Melaleuca cajuputi* As Heavy Metals Phytoremediator For Sewage Sludge Contaminated Soil. *American Journal of Applied Sciences.* 10(9) : 1087.
- Montgomery, D.C. 1997. *Design and analysis of experiments 4th Edition.* New York: John Wiley and Sons.
- Moore, L.E, 1972. *Fundamentals Of The Fungi (Fouth Edition).* London. Prentie Hall International Inc.
- Nastiti, N.I. 2019. Eksplorasi Fungi Endofit Dari Daun Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell) Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antibakteri. *Skripsi.* Universitas sriwijaya : Inderalaya.
- National Center for Biotechnology Information. 2020. *PubChem Compound Summary for CID 66370, Dextrose* (Online). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dextrose>. Diakses pada 8 November 2020
- Nukmal, N., Pasutri, A. Y., dan Pratami, G. D. 2019. Karakterisasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Polar Daun Gamal Kultivar Lampung Utara Dan Uji Aktivitasnya Terhadap Kutu Putih Kakao (*Planococcus minor*, *Hemiptera: Pseudococcidae*). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi.* 21(1): 25-34.
- Pertiwi, W.D. 2019. Fungi Endofit Daun Tumbuhan Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell) Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan. *Skripsi.* Universitas Sriwijaya: Inderalaya.
- Petrini, O., P. J., Fisher., dan Petrini, L. E. 1992. Fungal Endophytes of Bracken (*Pteridium aquilinum*), With Some Reflections On Their Use In Biological Control. *Sydowia.* 44: 282-293.
- Prabandari, E., Hidayati, D. N., Dewi, D., Islamiati, E. D., dan Syamsu, K. 2017. Peningkatan Produksi Sefalosporin C Dari *Acremonium chrysogenum* CB2/11/1.10. 6 Dengan Optimasi Media Menggunakan Metode Respon Permukaan. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBI).* 4(1) : 10-20.
- Pradeep, F. S., Dan Pradeep, B. V. 2013. Optimization Of Pigment And Biomass Production From *Fusarium moniliforme* Under Submerged Fermentation Conditions. *Culture,* 5(7) : 5260535.
- Prihatiningtias, W., dan Widayastuti, S. M. 2006. Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Sebagai Agensia Antimikroba. *Desertasi.* Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Prihatiningtias, W., Widayastuti, S. M., Dan Wahyuono, S. 2005. Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Thievalia Polygonoperda, Isolat Dari Tumbuhan

- Akar Kuning (*Fibraurea Chloroleuca Miers.*). *Majalah Obat Tradisional*. 12(41) : 1-7.
- Putra, A. R.P. 2012. Optimasi Produksi Lipase Dengan Variasi Konsentrasi Substrat Dan Suhu Melalui Fermentasi Rendam *Rhodotorula mucilaginosa* (YUICC422) Menggunakan Response Surface Methodology. Skripsi. Universitas Indonesia : Depok.
- Qiu, J.J., Chen, W., Ding, M., Zhang M.L., Dan Zhoa, F.K. 2012. Optimization Of Penicillin G Acylase Production By Recombinant *Bacillus subtilis* Via Response Surface Analysis. *Journal Zhejiang Sci Tech Univ.* 29(9):1028-1037.
- Rahayu, M., dan Susanti, E. 2017. Optimasi Jenis dan Kadar Sumber Nitrogen Serta Ph Medium Untuk Produksi Protease dari Isolat HTcUM6. 2.2 dari Tauco Surabaya. *Jurnal Kimia Riset*. 2(2) : 98-107.
- Raiissi, S., dan Farzani, R. E. 2009. Statistical process optimization through multi-response surface methodology. World Academy of Science, Engineering and Technology. *Int J Math, Computational, Physical, Electrical and Computer Engineering*. 3 : 197-201.
- Rebbapragada, D., dan Kalyanaraman, R. 2016. Evaluation and Optimization of Antioxidant Potentiality of *Xylaria Feejeensis* HMJAU22039. *Asian J Pharm Clin Res*, 9(2), 269-273.
- Rusnaeni, Desy I., Fitria L., Imelda M, dan Is I. 2016. Identifikasi Asam Mefenamat dalam Jamu Rematik yang Beredar di Distrik Heram Kota Jayapura Papua. *J. Pharmacy*. 13(1): 84-91.
- Sakasegawa, M., Hori, K., dan Yatagai, M. 2003. Composition And Antitermite Activities Of Essential Oils From Melaleuca Species. *Journal of Wood Science*. 49(2) : 181-187.
- Sanchez S et al. 2010. Carbon source regulation of antibiotic production. *Journal Antibiot*. 63(1): 442-459.
- Saryono, N., Christine , J., Dan Linggawati, A. 2016. Penentuan Medai Produksi Senyawa Antimikrobal Endofit Dari *Fusarium oxysporum* LBKURCC41 Umbi Tumbuhan Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Indonesian Chemia Acta*. 6(1) :1.
- SDA. 2018. *United States Department of Agriculture* : Natural Resources Conservation Service. (online). <https://plants.sc.egov.usda.gov>. Diakses Pada Tanggal 5 September 2020.

- Septiana, E., dan Simanjuntak, P. 2017. Effect Of Different Culture Condition On Antioxidant Secondary Metabolites From Endophytic Fungi Isolated From Turmeric Root. *Majalah Obat Tradisional (Traditional Medicine Journal)*. 22(1) : 31-36.
- Septiana, E., Sukarno, N., dan Simanjuntak, P. 2017. Endophytic Fungi Associated With Turmeric (*Curcuma longa L.*) Can Inhibit Histamine-Forming Bacteria in Fish. *HAYATI Journal of Biosciences*. 24(1) : 46-52.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., dan Sukiman, H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik Dari Tumbuhan Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba. *Berk Penel Hayati*. 13: 85-90.
- Sopiah, B., Muliasari, H., dan Yuanita, E. 2019. Skrining Fitokimia Dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau Dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(1):27-33.
- Southwell, I., dan Lowe, R. 1999. *Tea tree: the genus Melaleuca*. CRC Press : London.
- Stanbury, P.F., dan Whitaker, A. 1987. *Principles of Fermentation Technology*. New York: Pergamon Press
- Sudaryono, S. 2010. Evaluasi Kesesuaian Lahan Tumbuhan Kayu Putih Kabupaten Buru, Provinsi Maluku. *Jurnal Teknologi Lingkungan BPPT*. 11(1): 105-117.
- Tan, R. X., dan Zou, W. X. 2001. Endophytes: A Rich Source Of Functional Metabolites. *Natural product reports*. 18(4): 448-459.
- Tanaka, A., Shiotani, H., Yamamoto, M., dan Tsuge, T. 1999. Insertional Mutagenesis And Cloning Of The Genes Required For Biosynthesis Of The Host-Specific AK-Toxin In The Japanese Pear Pathotype Of *Alternaria alternata*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*.12(8): 691-702.
- Tarui, N., Ikeura, Y., Natsugari, H., dan Nakahama, K. 2001. Microbial synthesis of three metabolites of a tachykinin receptor antagonist, TAK-637. *J Biosci Bioeng*. 92(3):285-287.
- Tudzynski, B. 2014. Nitrogen regulation of fungal secondary metabolism in fungi. *Frontiers in microbiology*. 5 : 656.
- Umezawa. H., Takita. T., dan Shiba, T. 1978. *Bioactive peptides produced by microorganisms*. New York: John Wiley & Sons.

- Vogel, H.C., dan Todaro, C.L. 1996. *Fermentation and biochemical engineering handbook; principles, process design and equipment*. New Jersey: Noyes Publications.
- Volk, W. A dan MF Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. Erlangga : Jakarta.
- Wulandari, E.Y.L.K., Bisri, M., dan Harisuseno, D. 2018. Application of Stratified Filter And Wetland To Stabilize The Temperature And pH Of Blackwater. *International Journal Of Civil Engineering And Technology*. 9(9):1574-1582.
- Wang, D.I.C., Cooney, C.L., Demain, A.L., Dunhill, P., Humprey, A.E, dan Lily, M.M. 1979. *Fermentation and Enzym Technology*. London: Willey Interscience
- Weuster, B. D. 2000. Experimental design for fermentation media development: statistical design or global random search?. *Journal of bioscience and bioengineering*. 90(5): 473-483.
- Wolter, F., Clausnitzer, A., Akoglu, B., dan Stein, J. 2002. Piceatannol, A Natural Analog Of Resveratrol, Inhibits Progression Through The S Phase Of The Cell Cycle In Colorectal Cancer Cell Lines. *The Journal of nutrition*.132(2) : 298-302.
- Xu, L. J., Liu, Y. S., Zhou, L. G., Dan Wu, J. Y. 2009. Enhanced Beauvericin Production With In Situ Adsorption In Mycelial Liquid Culture Of *Fusarium redolens* DZF2. *Process biochemistry*, 44(10), 1063-1067.
- Yamanoshita, T., Nuyim, T., Masumori, M., Tange, T., Kojima, K., Yagi, H., .2001. Growth Response Of *Melaleuca cajuputi* To Flooding In A Tropical Peat Swamp. *Journal Of Forest Research*. 6 (3): 217–219.
- Zahroh, F., Ni'matzahroh, & Nurharyati, T., 2011, Pengaruh Konsentrasi Gula Cair dan Waktu Inkubasi terhadap Produksi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP, Laporan Penelitian, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- Zhou, T., Chen, D., Li, C., Sun, Q., Li, L., Liu, F., dan Shen, B. 2012. Isolation And Characterization Of *Pseudomonas brassicacearum* J12 As An Antagonist Against Ralstonia Solanacearum And Identification Of Its Antimicrobial Components. *Microbiological research*. 167(7): 388-394.
- Zuhri, R., Agustien, A., Dan Rilda, Y. 2013. Pengaruh Konsentrasi Sumber Karbon Dan Nitrogen Terhadap Produksi Protease Alkali Dari *Bacillus* Sp. M1.2.3 Termofilik. *Prosiding Semirata*. 1(1).

