

**OPTIMASI PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGI
ENDOFIT *Neopestalotiopsis* sp. DENGAN VARIASI
SUMBER C, N, DAN pH**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh:

ALIFIA ANISYA

08041181823019



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

2022

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

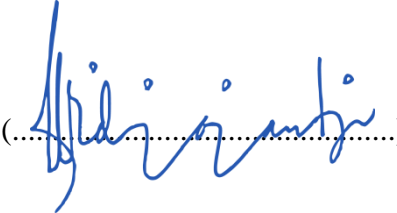
Judul Skripsi : Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit
Neopestalotiopsis sp. dengan Variasi Sumber C, N, dan
pH
Nama Mahasiswa : Alifia Anisya
NIM : 08041381823019
Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 20 April 2022

Indralaya, Mei 2022

Pembimbing

1. Dr. Hary Widjajanti, M.Si.
NIP. 196112121987102001

()

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit
Neopestalotiopsis sp. dengan Variasi Sumber C, N, dan
pH

Nama Mahasiswa : Alifia Anisya

NIM : 08041381823019

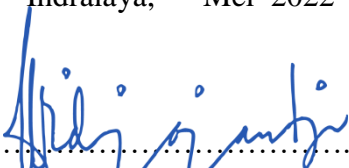
Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 20 April 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan Panitia Sidang Ujian Skripsi.

Indralaya, Mei 2022

Ketua:

1. Dr. Hary Widjajanti, M. Si.
NIP. 196112121987102001

()

Anggota:

1. Dr. Elisa Nurnawati, M. Si.
NIP. 197504272000122001

()

2. Dwi Hardestyariki, S. Si., M. Si.
NIP. 198812112919122012

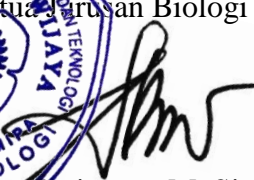
()

3. Dra. Nina Tanzerina, M. Si.
NIP. 196402061990032001

()



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

()
Dr. Anna Setiawan, M. Si.
NIP. 197211221998031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Alifia Anisya
NIM : 08041181823019
Fakultas/Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesajanaan 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, Mei 2022

Penulis,



Alifia Anisya
08041181823019

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Alifia Anisya
NIM : 08041181823019
Fakultas/Jurusan : FMIPA / Biologi
Jenis Karya : Skripsi

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

“Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit *Neopestalotiopsis* sp. dengan Variasi Sumber C, N, dan pH”

Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Mei 2022

Penulis,



Alifia Anisya

08041181823019

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Allah yang menjadikan bumi itu mudah untuk kalian, maka berjalanlah diseluruh penjurunya dan makanlah sebagian rizki-Nya dan hanya kepada Allah tempat kembali” (QS. Al Mulk: 15)

“Dan aku menyerahkan urusanku kepada Allah” (Qs. Al-Mu’min: 44).

Kupersembahkan skripsi ini untuk:

- ✧ Allah S.W.T. dan Nabi Muhammad S.A.W.
- ✧ Keluargaku tersayang (Papa, Mama, Alm. Bayu, Cyntia, dan Erry) yang telah menjadi *support system* terbesar selama perkuliahan dan penelitian.
- ✧ Pembimbing skripsiku, Ibu Dr. Hary Widjajanti M. Si. yang baik hati, tegas, penyabar, dan pengertian.
- ✧ Teman satu angkatanku, Bioers 2018.
- ✧ Almamaterku.

"Life is like a piano, white and black. If God play it, all will be a beautiful melody. Do your best at every opportunity that you have, so when you want to give up, look at back and then see how far you have climbed to reach your goal."

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah S.W.T. dikarenakan berkat rahmat dan karunia-Nya, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit *Neopestalotiopsis* sp. dengan Variasi Sumber C, N, dan pH**” sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada Ibu Dr. Hary Widjajanti, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dukungan, dedikasi, nasihat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terimakasih juga penulis haturkan kepada Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si, Ibu Dwi Hardestyariki, S.Si., M.Si., dan Ibu Dr. Nina Tanzerina, M. Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis dalam merampungkan skripsi ini.

Penulis menyadari berkat bantuan, bimbingan, dan masukan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Arum Setiawan, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Dr. Sarno, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, dan selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehatnya selama proses perkuliahan.

4. Ibu Dr. Hary Widjajanti, M.Si. selaku dosen Pembimbing Akademik yang memberikan bimbingan dan arahan selama proses perkuliahan.
5. Seluruh Dosen dan staff karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.
6. Kak Agus Wahyudi, S.Si. selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi dan Ibu Rosmania, S.T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi yang membantu penulis di laboratorium.
7. Rekan-rekan seperjuanganku (Dinda Sari, Putri Balqis, Feby Oktavia, Putri Dwindriani, Sasti Pebry Ayuni, Mail Maulana, Meranda Tasya, Wahid Herlanda, Yuni Handayani, Adinda Cendekia) dan Kak Eca Desriana Zahwa yang telah membantu penulis selama proses penyusunan tugas akhir.
8. Team Sobat Ambyar (Widia Juniarti, Dinda Sari, Novita Yulinda, Tiara Putri Nabilah, dan Amelya Gustia Sari) yang selalu menjadi sahabat perjuangan di kala senang maupun susah saat perkuliahan berlangsung.
9. Seluruh rekan angkatan Biologi 2018.
10. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademik dan masyarakat umum. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga kritik dan saran terkait skripsi ini sangat diterima untuk kebaikan di masa datang.

Indralaya, Mei 2022

Penulis

**OPTIMIZATION FOR PRODUCTION OF SECONDARY METABOLITES
ENDOPHYTIC FUNGI *Neopestalotiopsis* sp. WITH VARIATION OF
CARBON SOURCE, NITROGEN SOURCE, AND pH**

**Alifia Anisya
08041181823019**

SUMMARY

Endophytic fungi that isolated from Bengkulu (*Nauclea orientalis* L.) have the strongest potential for antibacterial activity, which one is *Neopestalotiopsis* sp. At concentration of 1000 µg/mL, the endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp. has a strong antibacterial activity of 84,6% against *Escherichia coli* ATCC8739 and antibacterial activity of 92,8% against *Staphylococcus aureus* ATCC6538. Endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp. only produce secondary metabolites of 0,26 g and contains bioactive compounds just only tannins. Based on that, it is necessary to optimize the composition of cultivation media with various sources of carbon, nitrogen, and pH for endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp.

This research aims to analyze the effect of the source's type of carbon, nitrogen, and pH in cultivation media as well as the interaction of the three factors in order to obtain the most optimum conditions for secondary metabolite responses using Response Surface Methodology (RSM). This research also was carried out in order to detect the bioactive compound by Thin Layer Chromatography (TLC) contained in the extract of secondary metabolite from the optimization process of the endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp. This research was conducted from August 23, 2021 till December 10, 2021 at the Microbiology Laboratory and the Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya.

The stage of this research consisted of propagation of endophytic fungi, selection the sources of carbon, nitrogen, and pH in cultivation media, extraction of secondary metabolites, optimization of the composition of cultivation media using RSM, extraction of secondary metabolite, and analysis of secondary metabolite with TLC from result of optimization. Endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp. optimally produce secondary metabolite of 0,079 g using glucose, 0,1102 g using peptone, and 0,0972 g at neutral pH or pH 7. The formulation for optimization of the medium composition for endophytic fungi *Neopestalotiopsis* sp. is using glucose 4,179 g L⁻¹, pepton serbesar 0,449 g L⁻¹, dan pH 6,954 which is indicated by the optimum secondary metabolite response 0,326 g and desirability value 0,786. Chromatogram profile from the extract of secondary metabolite *Neopestalotiopsis* sp. Optimization result show of tannins, terpenoids, phenols, and steroids.

Keywords: Endophytic Fungi, Medium Optimization, *Neopestalotiopsis* sp., Response Surface Methodology, Secondary Metabolites

OPTIMASI PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGI ENDOFIT

Neopestalotiopsis sp. DENGAN VARIASI SUMBER C, N, DAN pH

Alifia Anisya
08041181823019

RINGKASAN

Fungi endofit yang diisolasi dari tumbuhan Bengkal (*Nauclea orientalis* L.) memiliki potensi aktivitas antibakteri yang paling kuat yaitu salah satunya *Neopestalotiopsis* sp. Dalam konsentrasi 1000 µg/mL, fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. memiliki aktivitas antibakteri yang kuat sebesar 84,6% terhadap *Escherichia coli* ATCC8739 dan aktivitas antibakteri sebesar 92,8% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC6538. Fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. hanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebesar 0,26 g dan hanya mengandung golongan senyawa aktif berupa tanin saja. Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan optimasi komposisi dari media kultivasi dengan variasi sumber karbon, nitrogen, dan pH terhadap fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh dari jenis sumber karbon, nitrogen, dan pH dalam media kultivasi serta interaksi ketiga faktor agar mendapatkan kondisi paling optimal terhadap respons metabolit sekunder menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Penelitian ini juga dilakukan agar dapat mendeteksi golongan senyawa aktif dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang terdapat di dalam ekstrak metabolit sekunder hasil dari proses optimasi fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. Penelitian ini dilaksanakan mulai dari tanggal 23 Agustus 2021 hingga 10 Desember 2021 di Laboratorium Mikrobiologi serta Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Tahapan penelitian ini adalah propagasi fungi endofit, pemilihan sumber karbon, nitrogen, dan pH pada medium kultivasi, ekstraksi metabolit sekunder, optimasi komposisi media kultivasi menggunakan RSM, ekstraksi metabolit sekunder hasil optimasi, analisis data metabolit sekunder hasil optimasi, dan analisis KLT senyawa metabolit sekunder hasil optimasi. Fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. memproduksi senyawa metabolit secara optimal sebesar 0,079 g pada pemakaian glukosa, sebesar 0,1103 g pada pemakaian pepton, dan sebesar 0,0972 g pada pH netral atau pH 7. Formula komposisi medium optimasi fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. adalah dengan pemakaian glukosa sebesar 4,179 g L⁻¹, pepton sebesar 0,449 g L⁻¹, dan pH 6,954 dengan respon metabolit sekunder optimum sebesar, 0,326 g dan nilai *desirability* sebesar 0,786. Profil kromatogram ekstrak metabolit sekunder fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. hasil optimasi menunjukkan kandungan senyawa tanin, terpenoid, fenol, dan steroid.

Kata Kunci: Fungi Endofit, Metabolit Sekunder, *Neopestalotiopsis* sp., Optimasi Medium, *Response Surface Methodology*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PENYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY	ix
RINGKASAN	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Fungi Endofit Daun Bengkal (<i>Nauclea orientalis</i> L.).....	7
2.1.1. <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	7
2.2. Metabolit Sekunder	9
2.2.1. Biosintesis Metabolit Sekunder <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	9
2.3. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Metabolit Sekunder	13
2.3.1. Pengaruh Sumber Karbon	14
2.3.2. Pengaruh Sumber Nitrogen.....	15
2.3.3. Pengaruh Derajat Keasaman (pH).....	16
2.4. Metode Optimasi	17
2.4.1. Optimasi Produksi dengan <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)..	18
BAB III. METODE PENELITIAN	20

3.1. Waktu dan Tempat.....	20
3.2. Alat dan Bahan	20
3.3. Cara Kerja	21
3.3.1. Pembuatan Medium dan Sterilisasi Alat Bahan	21
3.3.2. Propagasi Fungi Endofit	21
3.3.3. Tahap Kultivasi Fungi Endofit	22
3.3.4. Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit.....	24
3.3.5. Optimasi Komponen Media Kultivasi dengan RSM	25
3.3.6. Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Hasil Optimasi.....	25
3.3.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	26
3.3.8. Variabel Pengamatan.....	27
3.3.9. Penyajian Data	27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Sumber Karbon Terbaik Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	28
4.2. Sumber Nitrogen Terbaik Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	30
4.3. Kisaran pH Terbaik Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	32
4.4. Hasil Optimasi Media Kultivasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	34
4.4.1. Respons Berat Ekstrak Hasil Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	34
4.4.2. Model Respon Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	36
4.4.3. Hasil Analisis Ragam (ANOVA) dan Interaksi Antara Faktor Terhadap Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	38
4.5. Formulasi Medium Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	42
4.6. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Metabolit Sekunder Hasil Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	43
BAB V. KESIMPULAN	50
5.1. Kesimpulan	50
5.2. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	79

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Informasi Komposisi Medium Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. Serta Kisaran dan Taraf Faktor Optimasi.....	35
Tabel 4.2.	Respon Hasil Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. Berdasarkan 3 Faktor Menggunakan <i>Central Composite Design</i> pada <i>Response Surface Methodology</i>	36
Tabel 4.3.	Formula Komposisi Medium Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	42
Tabel 4.4.	Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	8
Gambar 2.2.	Biosintesis Senyawa Tanin melalui Jalur Asam Galat.....	10
Gambar 2.3.	Biosintesis Senyawa Fenol melalui Jalur Asam Sikimat.....	11
Gambar 2.4.	Biosintesis Senyawa Terpenoid dan Steroid.....	12
Gambar 4.1.	Berat Ekstrak dan Berat Biomassa Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. dengan Penggunaan Sumber Karbon yang Berbeda selama 30 Hari Waktu Kultivasi	28
Gambar 4.2.	Berat Ekstrak dan Berat Biomassa Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. dengan Penggunaan Sumber Nitrogen yang Berbeda selama 30 Hari Waktu Kultivasi	31
Gambar 4.3.	Berat Ekstrak dan Berat Biomassa Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. dengan Kisaran pH yang Berbeda selama 30 Hari Waktu Kultivasi.....	33
Gambar 4.4.	(A) Grafik 3D- <i>Surface</i> Respon Permukaan; dan (B) Grafik Kontur Respon Permukaan Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	40
Gambar 4.5.	Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	44
Gambar 4.6.	Mekanisme Biosintesis Terpenoid oleh Fungi Melalui Jalur Asam Mevalonat.....	46
Gambar 4.7.	Mekanisme Biosintesis Steroid Melalui Jalur Asam Mevalonat	48
Gambar 4.8.	Mekanisme Biosintesis Fenol Melalui (A) Jalur Asam Sikimat dan (B) Jalur Fenilpropanoid	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Komposisi Medium PDB.....	63
Lampiran 2.	Komposisi Tambahan Medium PDB	63
Lampiran 3.	Pembuatan Media Optimasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	63
Lampiran 4.	Hasil Kultivasi Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. Selama 30 Hari.....	64
Lampiran 5.	Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	67
Lampiran 6.	Berat Ekstrak dan Standar Deviasi Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. Berdasarkan Pemilihan Sumber Karbon, Nitrogen, dan pH.....	68
Lampiran 7.	Hasil Kultivasi Selama 30 Hari Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp. dengan Medium Optimasi	69
Lampiran 8.	Respon Hasil Optimasi Proses Metabolit Sekunder Fungi Endofit <i>Neopestalotiopsis</i> sp.....	75
Lampiran 9.	Jumlah Kuadrat Beberapa Model yang Dirancang untuk Proses Optimasi Medium Kultivasi	76
Lampiran 10.	Data Analisis Beberapa Model yang Dirancang untuk Proses Optimasi Medium Kultivasi Metabolit Sekunder.....	76
Lampiran 11.	Analisis Keragaman (ANOVA) untuk Model <i>Quadratic</i>	77
Lampiran 12.	<i>Fit Statistics</i> yang Cocok untuk Proses Optimasi Medium Kultivasi Metabolit Sekunder.....	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi merupakan salah satu respon fisiologis terhadap cekaman biotik dan abiotik seperti kekurangan nutrisi dan faktor lingkungan (Macheleidt *et al.*, 2016). Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh fungi endofit merupakan potensi besar yang bermanfaat terutama pada bidang kesehatan. Jika fungi endofit hasil isolasi dari suatu tanaman obat memproduksi alkaloid atau metabolit yang sama bahkan dalam jumlah lebih tinggi, maka pemanenan tanaman inang secara berulang tidak perlu dilakukan lagi karena memerlukan waktu yang lama (Dion *et al.*, 2021).

Fungi endofit memproduksi berbagai jenis senyawa metabolit fungsional seperti senyawa antimikroba (Pinheiro *et al.*, 2013), antikanker (Mamangkey *et al.*, 2022), antivirus (Attia *et al.*, 2020), serta hormon pertumbuhan tanaman (Hwang *et al.*, 2011). Motaal *et al.* (2010) menambahkan, jamur endofit memproduksi banyak senyawa bioaktif yang digunakan dalam meningkatkan ketahanan *host* atau inang dari serangan mikroorganisme patogen. Menurut Katoch *et al.* (2014), fungi endofit akan menginfeksi tanaman yang sehat pada jaringan tertentu sehingga dapat menghasilkan antibiotik, enzim, dan mikotoksin.

Bagian tumbuhan telah banyak digunakan sebagai tanaman obat yang jumlahnya terus meningkat sehingga mengakibatkan berkurangnya sumber daya

alam. Salah satu upaya untuk membatasi penggunaan ini adalah isolasi fungi endofit pada bagian tanaman yang dapat memproduksi senyawa metabolit aktif (Setiawan dan Musdalipah, 2018). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit memiliki peran penting dalam meningkatkan daya adaptasi dari fungi endofit dan *host*, misalnya ketahanan terhadap cekaman abiotik dan biotik (Chadha *et al.*, 2015). Apabila dibandingkan dengan mikroba endofit lainnya, fungi endofit memproduksi lebih banyak metabolit sekunder (Sudha *et al.*, 2016).

Aktivitas antibakteri yang berasal dari ekstrak metabolit sekunder *Neopestalotiopsis* sp. memiliki potensi sebesar 84,6% terhadap *Eschericia coli* ATCC8379 serta memiliki potensi sebesar 92,8% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC6538 apabila dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin. Produksi metabolit sekunder yang rendah dengan berat ekstrak sebesar 0,26 g yang dihasilkan selama tahap kultivasi dan potensi aktivitas senyawa bioaktif yang tinggi yang dihasilkan oleh isolat *Neopestalotiopsis* sp. (Rahmadiani, 2020), sehingga membutuhkan perlakuan khusus untuk memproduksi metabolit sekunder. Peningkatan pada hasil metabolit sekunder dapat dicapai dengan melakukan optimasi pada komposisi media kultivasi.

Perbedaan komposisi dalam media kultivasi yang digunakan mempengaruhi jumlah metabolit yang berbeda. Pencarian kondisi yang paling optimal selama proses pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder dari isolat menjadi dasar pentingnya optimasi media kultivasi (Nofianti *et al.*, 2016). Salah satu upaya dalam mengubah faktor fisik serta faktor lingkungan ketika proses kultivasi dalam media cair untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder

yaitu dengan memodifikasi atau mengubah sumber karbon, sumber nitrogen, dan pH (Septiana *et al.*, 2017).

Sumber karbon merupakan salah satu komponen yang penting sebagai sumber energi dalam pertumbuhan mikroorganisme (Kusmiati *et al.*, 2011). Tanpa kehadiran sumber karbon, mikroorganisme tidak dapat tumbuh dan melakukan aktivitas metabolisme. Hal tersebut dikarenakan oleh sumber karbon merupakan makronutrien yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk bertahan hidup (Wicaksono *et al.*, 2017). Pemilihan jenis karbon harus dilakukan untuk mengoptimalkan produksi metabolit sekunder dari *Neopestalotiopsis* sp. Jenis karbon yang dipakai dalam pemilihan sumber karbon terbaik ialah glukosa, dekstrosa, dan sukrosa.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Verma *et al.* (2017), produksi total metabolit tertinggi dengan zona hambat sebesar 15 mm dicapai dengan pemberian glukosa pada *Aspergillus* sp. Ramos *et al.* (2011), melaporkan bahwa produksi maksimum metabolit sebagai aktivitas antimikroba sebesar 110 µg/mL diamati dengan adanya sukrosa sebagai sumber karbon oleh jamur endofit *Arthrinium* sp. Sesuai dengan penelitian Gogoi *et al.* (2008), penambahan konsentrasi 0,1% dekstrosa memberikan pengaruh terhadap produksi metabolit bioaktif optimum sebesar 16 µg/mL oleh cendawan endofit *Fusarium* sp. DF2 yang diisolasi dari *Taxus wallichiana*.

Nitrogen merupakan komponen penting dalam sel hidup yang terdapat dalam asam nukleat, enzim kofaktor, protein, molekul pemberi sinyal, serta produk metabolit sekunder dan proses metabolisme yang diperlukan yang terlibat dalam

transfer energi (Puri *et al.*, 2018) dan sangat dibutuhkan dalam sintesis protein (Kusmiati *et al.*, 2011). Pemilihan sumber nitrogen terbaik seperti *yeast extract*, pepton, dan sodium nitrat juga menjadi penting dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp.

Penicillium sp. menghasilkan senyawa antimikroba dengan sebagian besar sumber nitrogen organik dan anorganik, tetapi natrium nitrat merupakan sumber nitrogen paling cocok untuk produksi metabolit antimikroba secara optimum (Jain dan Gupta, 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sunaryanto *et al.* (2018), *yeast extract* merupakan sumber nitrogen terbaik sebagai antifungi dari *Penicillium lagena*. Penggunaan pepton sebagai sumber nitrogen dapat mengoptimalkan produksi metabolit sekunder yaitu resveratrol oleh fungi endofit *Arcopilus aureus* sebesar 0,92 µg/mL (Dwibedi *et al.*, 2020).

Kondisi lingkungan pada tempat tumbuh suatu organisme yang sesuai merupakan salah satu faktor yang menjadi pengaruh ekspresi enzimatis yang memiliki peran untuk memproduksi metabolit sekunder (Viogenta *et al.*, 2020). Tingkat pH dalam media pertumbuhan memiliki pengaruh dalam produksi metabolit sekunder karena konsentrasi ion hidrogen yang memiliki efek langsung pada sel fungi (Jain dan Pundir, 2011). Anwar dan Iqbal (2017) melaporkan bahwa medium kultivasi dengan pH 5 dapat mengoptimalkan produksi aktivitas antibakteri oleh *Trichoderma harzianum*. Produksi metabolit sekunder sebagai antibakteri yang optimal oleh *Nigrospora* sp. pada pH 7 (Sandey *et al.*, 2015).

Response Surface Methodology (RSM) merupakan kumpulan teknik statistik dan matematika untuk meningkatkan dan mengoptimalkan proses yang efektif

digunakan dalam optimasi media kultivasi yang sumber nutrisinya telah dipilih (Arora dan Kaur, 2019). RSM berperan penting apabila terdapat banyak faktor yang mempengaruhi produksi dan hasil. RSM digunakan untuk menentukan faktor signifikan yang dapat mempengaruhi suatu eksperimen model yang mengkorelasikan respon terhadap faktor eksperimental (Danmaliki *et al.*, 2016). RSM didasarkan pada penyesuaian model matematika dengan hasil eksperimen yang dirancang dan verifikasi model yang diperoleh dengan teknik statistik (Karimifard dan Moghaddam, 2018).

1.2. Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana pengaruh pemberian sumber karbon, nitrogen, dan pH yang berbeda terhadap jumlah ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp.?
2. Bagaimana pengaruh interaksi faktor sumber karbon, nitrogen, dan pH terhadap jumlah ekstrak metabolit sekunder fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM) ?
3. Berapa nilai optimum dari interaksi ketiga faktor dalam menghasilkan ekstrak metabolit sekunder oleh fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM) ?
4. Apa saja golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak metabolit sekunder hasil optimasi dari fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis pengaruh pemberian sumber karbon, nitrogen, dan pH yang berbeda terhadap jumlah ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp.
2. Menganalisis pengaruh interaksi faktor sumber karbon, nitrogen, dan pH terhadap jumlah ekstrak metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM).
3. Menentukan nilai optimum dari interaksi ketiga faktor dalam menghasilkan ekstrak metabolit sekunder oleh fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM).
4. Mendeteksi golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak metabolit sekunder hasil optimasi dari fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. berdasarkan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

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 fungi endofit *Neopestalotiopsis* sp. yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Mamari, H. H. (2021). *Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis*. United Kingdom : BoD-Books on Demand.
- Anwar, J., & Iqbal, Z. (2017). Effect of Growth Conditions on Antibacterial Activity of *Trichoderma harzianum* Against Selected Pathogenic Bacteria. *Sarhad Journal of Agriculture*. 33(4): 501-510.
- Apriliana, D., Widayat, W., & Rusli, R. (2016). Isolasi Jamur Endofit Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*. 72-77.
- Arifah, A. A. (2019). Gula Pasir sebagai Pengganti Dekstrosa Pada Komposisi PDA untuk Efisiensi Biaya Praktikum dan Penelitian di Laboratorium Fitopatologi. *Jurnal Temapela*. 2(1) : 28-32.
- Arora, D. S., & Chandra, P. (2010). Assay of Antioxidant Potential of Two *Aspergillus* Isolates by Different Methods Under Various Physio-Chemical Conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 765-777.
- Arora, D. S., Chandra, P., & Kaur, G.J. (2012). Optimization And Assay Of Antioxidant Potential Of Two Penicillin By Different Procedures. *Current Biotechnology*. 1(1) : 2-10.
- Ashrini, B. S., & Varalakshmi, K. N. (2019). Statistical Optimization of Media Components by Taguchi Design and Response Surface Methodology for Enhanced Production of Anticancer Metabolite by *Penicillium* sp. *JUFP2. Research Journal of Pharmacy and Technology*. 12(2) : 463-471.
- Attia, E. A., Singh, B. P., Dashora, K., & Abdel-Azeem, A. M. (2020). A Potential Antimicrobial, Extracellular Enzymes, and Antioxidants Resource: Endophytic Fungi Associated with Medicinal Plants. *International Journal Bioscience*. 17(1): 119-132.
- Bhattacharyya, P.N. & Jha, K. D. (2011). Optimization of Cultural Condition Affecting Growth and Improved Bioactive Metabolite Production by Subsurface *Aspergillus* Strain TSF-146. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* 2(4) : 133-143.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escalera, L. A. (2008). Response Surface Methodology (RSM) as A Tool for Optimization in Analytical Chemistry. *Talanta*. 76(5): 965-977.
- Bose, P., Gowrie, S. U., & Chaturdevi, G. (2019). Optimization of Culture Conditions for Growth and Production of Bioactive Metabolites by Endophytic Fungus–*Aspergillus tamarii*. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9: 469-478.

- Brakhage, A. A. (2013). Regulation of Fungal Secondary Metabolism. *Nature Reviews Microbiology*. 11(1): 21-32.
- Brocksom, T. J., Oliveira, K. T. D., & Desiderá, A. L. (2017). The Chemistry of the Sesquiterpene Alkaloids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 28 : 933-942.
- Buhaescu, I. and H. Izzedine (2007). Mevalonate Pathway: A Review of Clinical and Therapeutical Implications. *Clinical Biochem*. 40 (9): 575–584.
- Bundale, S., Begde, D., Nashikkar, N., Kadam, T., & Upadhyay, A. (2015). Optimization of Culture Conditions for Production of Bioactive Metabolites by *Streptomyces* spp. Isolated from Soil. *Advances in Microbiology*. 5(6): 441-451.
- Cardoza, R. E., Hermosa, M. R., Vizcaíno, J. A., Sanz, L., Monte, E., & Gutiérrez, S. (2005). Secondary Metabolites Produced by *Trichoderma* and Their Importance in The Biocontrol Process. *Microorganism for industrial enzymes and biocontrol*. 37 (2): 1-22.
- Chadha, N., Mishra, M., Rajpal, K., Bajaj, R., Choudhary, D. K., & Varma, A. (2015). An Ecological Role of Fungal Endophytes to Ameliorate Plants Under Biotic Stress. *Archives of Microbiology*. 197(7): 869-881.
- Chang, J., Ning, Y., Xu, F., Cheng, S., & Li, X. (2015). Research Advance of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme a Synthase in Plant Isoprenoid Biosynthesis. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*. 25(5): 1441-1450.
- Combet E., Henderson, J., Eastwood D. C., Burton K.S. (2006) Eight-Carbon Volatiles in Mushrooms and Fungi: Properties, Analysis, and Biosynthesis. *Mycoscience*. 47(6) : 317–326.
- Danmaliki, G. I., Saleh, T. A., & Shamsuddeen, A. A. (2017). Response Surface Methodology Optimization of Adsorptive Desulfurization on Nickel Activated Carbon. *Chemical Engineering Journal*. 313: 993-1003.
- Deka, D., & 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.
- Dion, R., Maharani, N. A., Akbar, M. F., Wijayanti, P., & Nurlindasari, Y. (2021). Eksplorasi Pemanfaatan Jamur Endofit pada Tanaman *Curcuma* dan *Zingiber* sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 5(1) : 16-29.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan*

Bioteknologi Hasil Perikanan., 7(1): 15-24.

- Dwibedi, V., Rath, S. K., Prakash, R., & Saxena, S. (2021). Response Surface Statistical Optimization of Fermentation Parameters for Resveratrol Production by The Endophytic Fungus *Arcopilus aureus* and Its Tyrosinase Inhibitory Activity. *Biotechnology Letters*. 43(3): 627-644.
- El-Neketi M, Ebrahim W, & Lin W. (2013) Alkaloids and Polyketides from *Penicillium citrinum*, an Endophyte Isolated from The Moroccan Plant *Ceratonia siliqua*. *J Nat Prod*. 76:1099–1104.
- Endut, A., Abdullah, S. H. Y. S., Hanapi, N. H. M., Hamid, S. H. A., Lananan, F., Kamarudin, M. K. A., Umar, R., Juahir, H., & Khatoon, H. (2017). Optimization of Biodiesel Production by Solid Acid Catalyst Derived from Coconut Shell via Response Surface Methodology. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 124: 250-257.
- Firdiyani, F., Agustini, T. R., & Ma'ruf, W. F. (2015). Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(1): 28-37.
- Fitriah, F., Mappiratu, M., & Prismawiryanti, P. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 3(3): 242-251.
- Fitriyah, D., & Jose, C. (2013). Skrining Aktivitas Antimikroba dan Uji Fitokimia dari Kapang Endofitik Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Indonesian Chemia Acta*. 3(2) : 50-55.
- Frisvad, J. C. (2012). Media and Growth Conditions for Induction of Secondary Metabolite Production. *Humana Press*. 944 : 47-58.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(31): 6697-6703.
- Gogoi, D. K., Deka Boruah, H. P., Saikia, R. & Bora, T. C. (2008). Optimization of Process Parameters for Improved Production of Bioactive Metabolite by a Novel Endophytic Fungus *Fusarium* sp. DF2 Isolated from *Taxus wallichiana* of North East India. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. 24(1) : 79-87.
- Grigoletto, D. F., Correia, A. M. L., Abraham, W. R., Rodrigues, A., Assis, M. A., Ferreira, A. G., Massaroli, M. & De Lira, S. P. (2019). Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi: Novel Antifungal Activity of Fumiquinone B. *Acta Scientiarum*. 41 (48785): 1-12.
- Gmoser, R., Sintca, C., Taherzadeh, M. J., & Lennartsson, P. R. (2019). Combining Submerged and Solid State Fermentation to Convert Waste Bread into Protein and Pigment Using The Edible Filamentous Fungus N.

Intermedia. *Waste Management*. 97: 63-70.

- Gulzamana, H., & Baloo, L. (2021). Design Expert Application in the Optimization of Cadmium (II) by Chitosan from Produced water. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 25 (6): 4687-4695.
- Hariati, S., Wahyuningrum, D., Yuhana, M., Tarman, K., Effendi, I., & Saputra, F. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kapang Laut *Nodulisporium* sp. KT29 Terhadap *Vibrio harveyi*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2) : 250-257.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., & 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.
- Hernawan, D. E., & Setiawan, A. D. (2003). Review: Ellagitannin: Biosintesis, Isolasi, dan Aktivitas Biologi. *Biofarmasi*. 1 (1): 25-38.
- Hwang J. S., You Y. H., Bae J. J., Khan S. A., Kim J.G., Choo Y.S. (2011) Effects of endophytic Fungal Secondary Metabolites on The Growth and Physiological Response of *Carex kobomugi* Ohwi. *Journal of Coastal Research*. 27 (3):544-548.
- Itoh, E., Odakura, R., Oinuma, K. I., Shimizu, M., Masuo, S., & Takaya, N. (2017). Sirtuin E Is A Fungal Global Transcriptional Regulator that Determines The Transition from The Primary Growth to The Stationary Phase. *Journal of Biological Chemistry*. 292(26): 11043-11054.
- Izzatinnisa, U. Utami, & A. Mujahidin. (2020). Uji Antagonisme Beberapa Fungi Endofit pada Tanaman Kentang terhadap *Fusarium oxysporum* secara in vitro. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. 2(1): 18-25.
- Jain, P., & Gupta, S. (2012). Effect of Carbon and Nitrogen Sources on Antimicrobial Metabolite Production by Endophytic Fungus *Penicillium* sp. Against Human Pathogens. *Journal of Pharmacy Research*. 5(8) : 4325-4328.
- Jain, P., & Pundir, R. K. (2011). Effect of Fermentation Medium, pH and Temperature Variations on Antibacterial Soil Fungal Metabolite Production. *Journal of Agricultural Technology*. 7(2): 247-269.
- Jangnga, I. D., Kambaya, P. P., & Kosala, K. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri dan Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L) terhadap *Enterococcus faecalis* Secara in Vitro. *ODONTO: Dental Journal*. 5(2) : 102-109.
- Jiang, M., Wu, Z., Guo, H., Liu, L., & Chen, S. (2020). A Review of Terpenes from Marine-Derived Fungi: 2015–2019. *Marine drugs*. 18(6): 1-48.
- Jiang, N., Bonthond, G., Fan, X. L., & Tian, C. M. (2018). *Neopestalotiopsis rosicola* sp. nov. Causing Stem Canker of *Rosa chinensis* in China.

Mycotaxon. 133(2): 271-283.

- Karimifard, S., & Moghaddam, M. R. A. (2018). Application of Response Surface Methodology in Physicochemical Removal of Dyes from Wastewater: A Critical Review. *Science of the Total Environment*. 640: 772-797.
- Katoch, M., Salgotra, A., & Singh, G. (2014). Endophytic Fungi Found in Association with *Bacopa monnieri* as Potential Producers of Industrial Enzymes and Antimicrobial Bioactive Compounds. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 57: 714-722.
- Kim, M., Jee, S. C., Shinde, S. K., Mistry, B. M., Saratale, R. G., Saratale, G. D., Ghodake, G. S., Kim, D. Y., Sung, J. S., & Kadam, A. A. (2019). Green-Synthesis of Anisotropic Peptide-Silver Nanoparticles and Its Potential Application as Anti-Bacterial Agent. *Polymers*. 11(2): 271.
- Kiranmayi, M. U., Sudhakar, P., Sreenivasulu, K., & Vijayalakshmi, M. (2011). Optimization of Culturing Conditions for Improved Production of Bioactive Metabolites by *Pseudonocardia* sp. *Mycobiology*. 39(3) : 174-181.
- Kusmiati, K., Thontowi, A., & Nuswantara, S. (2011). Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(2) : 138-145.
- Li, R., Chai, X., Cui, X., Jiang, Y., Zhang, D., & Wang, T. (2018). A Fluorescence Resonance Energy Transfer Based pH Probe for Visualizing Acidification in Fungal Cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 274 : 533-540.
- Ling, T. Y., & Kumar, J. R. (2017). Design, Optimization and Characterization of Azilsartan Nanoparticles Using Design-Expert® Software Version 11. *Rapid Prototyp Journal*. 3(3): 395-407.
- Lucas, E., Machado, Y., Ferreira, A., Dolabella, L., & Takahashi, J. (2010). Improved Production of Pharmacologically-active Sclerotiorin by *Penicillium sclerotiorum*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 9(4) : 365-371.
- Macheleidt, J., Mattern D. J., Fishcer J., Netzker T., Weber J., Schroeckh V., Valiate V., & Brakhage A. A. Regulation and Role of Fungal Secondary Metabolites. *The Annual Review of Genetics*. 50 (22) : 1-16.
- Mahapatra, S., & Banerjee, D. (2013) Optimization of A Bioactive Exopolysaccharide Production from Endophytic *Fusarium solani* SD5. *Carbohydrate polymers*. 97(2): 627-634.
- Maharachchikumbura, S. S., Hyde, K. D., Groenewald, J. Z., Xu, J., & Crous, P. W. (2014). *Pestalotiopsis* Revisited. *Studies in Mycology*. 79: 121-186.
- Mamangkey, J., Mendes, L. W., Harahap, A., Briggs, D., & Kayacilar, C. (2022).

Endophytic Bacteria and Fungi from Indonesian Medicinal Plants with Antibacterial, Pathogenic Antifungal and Extracellular Enzymes Activities: A Review. *International Journal of Science, Technology & Management*. 3(1): 245-255.

- Managamuri, U., Vijayalakshmi, M., Poda, S., Ganduri, V. R. K., & Babu, R. S. (2016). Optimization of Culture Conditions by Response Surface Methodology and Unstructured Kinetic Modeling for Bioactive Metabolite Production by *Nocardiosis litoralis* VSM-8. *3 Biotech*. 6(2) : 1-19.
- Mandal, S. M., Chakraborty D., dan Dey S. 2010. Phenolic Acids Act as Signaling Molecules in Plant-Microbe Symbioses. *Plant Signaling and Behavior*. 5 (4): 359-368.
- Mao, X. B., Titiporn E., Somchai C. dan Jian J. Z. 2005. Optimization of Carbon Source/Nitrogen Ratio for Cordycepin Production by Submerged Cultivation of Medicinal Mushroom *Cordyceps militaris*. *Process Biochemistry*. 40 (5): 1667-1672.
- Mathan, S., Subramanian, V., & Nagamony, S. (2013). Optimization and Antimicrobial Metabolite Production from Endophytic Fungi *Aspergillus terreus* KC 582297. *Eur J Exp Biol*. 3(4): 138-144.
- Merlin, J. N., Christhudas, I. V. S. N., Kumar, P. P., & Agastian, P. (2013). Optimization Of Growth And Bioactive Metabolite Production: *Fusarium solani*. *Asian J Pharm Clin Res*. 6(3) : 98-103.
- Metboki, B. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif Kulit Batang Ampupu (*Eucalyptus alba* Reinw. Ex. Blume) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Fusarium moniliforme*. *Savana Cendana*. 3 (1): 11-13.
- Mohamed, H., Hassane, A., Atta, O., & Song, Y. (2021). Deep Learning Strategies for Active Secondary Metabolites Biosynthesis from Fungi: Harnessing Artificial Manipulation and Application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 38 (102195): 1-21.
- Mohammed, S. J., Kadhum, K. J., & Waleed-Hameed, K. (2018). Classical and Statistical Optimization of Medium Composition for Promoting Prodigiosin Produced by Local Isolate of *Serratia marcescens*. *Al-Khwarizmi Engineering Journal*. 14(4) : 92-102.
- Motaal, F. A., Mortada, S.M.N., Soad El Zayat., Magdi, A., & Shin, I. I. (2010). Antifungal Activity of Endophytic Fungi Isolated From Egyptian Henbane (*Hyoscyamus Muticus* L.). *Journal of Botany*. 42 (4) : 2883-2894.
- Muir, R. M., Ibáñez, A. M., Uratsu, S. L., Ingham, E. S., Leslie, C. A., McGranahan, G. H., Batra, N., Goyal, S., Joseph, J., Jemmis, E. D., & Dandekar, A. M. (2011). Mechanism of Gallic Acid Biosynthesis in Bacteria (*Escherichia coli*) and Walnut (*Juglans regia*). *Plant molecular biology*. 75(6): 555-565.

- Nofianti, Saryono, Christine, J., & Linggawati, A. (2016). Penentuan Media Produksi Senyawa Antimikrobia Endofit dari *Fusarium oxysporum* LBKURCC41 Umbi Tumbuhan Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Indonesian Chemia Acta*. 6(1) : 5-9.
- Noor, A. O., Almasri, D. M., Bagalagel, A. A., Abdallah, H. M., Mohamed, S. G. A., Mohamed, G. A., & Ibrahim, S. R. M. (2020). Naturally Occurring Isocoumarins Derivatives from Endophytic Fungi: Sources, Isolation, Isolation, Structural Characterization, Biosynthesis, and Biological Activities. *Molecules*. 25(2): 395.
- Ogbonna, C. N. (2016). Production of Food Colourants by Filamentous Fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 10(26): 960-971.
- Pereira, E., Santos, A., Reis, F., Tavares, R. M., Baptista, P., Lino-Neto, T., & Almeida-Aguiar, C. (2013). A New Effective Assay to Detect Antimicrobial Activity of Filamentous Fungi. *Microbiological Research*. 168(1): 1-5.
- Pinheiro, E. A. A., Carvalho, J. M., dos Santos, D. C. P., Feitosa, A. D. O., Marinho, P. S. B., Guilhon, G. M. S. P., Souza A. D. L., dan Silca F. M. A. & Marinho, A. M. D. R. (2013). Antibacterial Activity of Alkaloids Produced by Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. EJC08 Isolated from Medical Plant *Bauhinia guianensis*. *Natural Product Research*. 27(18): 1633-1638.
- Prigione, V., Spina, F., Tigini, V., Giovando, S., & Varese, G. C. (2018). Biotransformation of Industrial Tannins by Filamentous Fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102(24): 10361-10375.
- Puri, S. K., Habbu, P. V., Kulkarni, P. V., & Kulkarni, V. H. (2018). Nitrogen Containing Secondary Metabolites from Endophytes of Medicinal Plants and Their Biological/Pharmacological Activities: A Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 9(1): 22-30.
- Putra, A.R.P. (2012). Optimasi Produk 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 Zhao, 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.
- Rahmadiani, G. (2020). Fungi Endofit Tumbuhan Bengkal (*Nauclea orientalis* L.) yang Berpotensi sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya : Indralaya.
- Rahmawati, I., Rahayu, G., Ratnadewi, D., & Achmadi, S. (2021). Effect of Medium pH and Light on Quinidine Production in *Cinchona calisaya*

- Wedd. Endophytic Fungi. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 18(2): 124-132.
- Ramos, H.P. & Said, S. (2011). Modulation of Biological Activities Produced by an Endophytic Fungus Under Different Culture Conditions. *Advance in Bioscience and Biotechnol.* 2(6) : 443-449.
- Rusnaeni, Desy I., Fitria L., Imelda M, & Is I. (2016). Identifikasi Asam Mefenamat dalam Jamu Rematik yang Beredar di Distrik Heram Kota Jayapura Papua. *J. Pharmacy*. 13(1): 84-91.
- Rustamova, N., Bozorov, K., Efferth, T., & Yili, A. (2020). Novel Secondary Metabolites from Endophytic Fungi: Synthesis and Biological Properties. *Phytochemistry Reviews*. 19(2): 425-448.
- Saeed, A. (2016). Isocoumarins, Miraculous Natural Products Blessed with Diverse Pharmacological Activities. *Eur J Med Chem*. 116:290–317.
- Salihu, A., Alam, M. Z., AbdulKarim, M. I., & Salleh, H. M. (2011). Optimization of Lipase Production by *Candida cylindracea* in Palm Oil Mill Effluent Based Medium Using Statistical Experimental Design. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 69(1-2): 66-73.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Hernández-Carlos B., dan Villanueva-Cañongo C. (2019). *Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds*. United Kingdom : Intech Open.
- Sandey, K., Aharwal, R. P., Kumar, S., & Sandhu, S. S. (2015). Production and Optimization of Antibacterial Metabolites from Endophytic Fungi *Nigrospora* sp. *J Appl Pharm Sci*. 5(11): 031-037.
- Saputra, D., & Nurhayati, T. (2013). Produksi dan Aplikasi Pepton Ikan Selar untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(3) : 215-223.
- Schmidt-Dannert, C. 2014. Biosynthesis of Terpenoid Natural Products in Fungi. *Biotechnology of Isoprenoids*. 148: 19-61.
- Septiana, E., & 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.
- Setiawan, M. A., & Musdalipah, M. (2018). Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 4(1): 53-60.
- Shahavi, M. H., Hosseini, M., Jahanshahi, M., & Darzi, G. N. (2015). Optimization of Encapsulated Clove Oil Particle Size with Biodegradable Shell Using Design Expert Methodology. *Pakistan Journal of*

Biotechnology. 12(2): 149-160.

- Shokoohi, R., Nematollahi, D., Samarghandi, M. R., Azarian, G., & Latifi, Z. (2020). Optimization of Three-Dimensional Electrochemical Process for Degradation of Methylene Blue from Aqueous Environments Using Central Composite Design. *Environmental Technology & Innovation*. 18 (100711): 1-12.
- Shokrollahi, M., Rezakazemi, M., & Younas, M. (2020). Producing Water from Saline Streams Using Membrane Distillation: Modeling and Optimization Using CFD and Design *Expert. International Journal of Energy Research*. 44(11): 8841-8853.
- Silvério, M. L., Calvacanti, M. A. D. Q., Silva, G. A. D., Oliveira, R. J. V. D., & Bezerra, J. L. (2016). A New Epifoliar Species of *Neopestalotiopsis* from Brazil. *Agrotrópica*. 28(2): 151-158.
- Solarte, F., Muñoz, C. G., Maharachchikumbura, S. S., & Álvarez, E. (2018). Diversity of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis* spp., Causal Agents of Guava Scab in Colombia. *Plant disease*. 102(1): 49-59.
- Sørensen, J. L., & Giese, H. (2013). Influence of Carbohydrates on Secondary Metabolism in *Fusarium avenaceum*. *Toxins*. 5(9): 1655-1663.
- Soto-Hernández, M., García-Mateos, R., & Palma-Tenango, M. (2019). *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*. United Kingdom : BoD–Books on Demand.
- Souagui, Y., Tritsch, D., Grosdemange-Billiard, C., & Kecha, M. (2015). Optimization of Antifungal Production by An Alkaliphilic and Halotolerant Actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, Using Response Surface Methodology. *Journal de mycologie medicale*. 25(2): 108-115.
- Souza J. J. d, Vieira I. J. C. , Rodrigues-Filho E., & Braz-Filho R. (2011). Terpenoids from Endophytic Fungi. *Molecules*. 16: 10604-10618.
- Sudha, V., Govindaraj, R., Baskar, K., Al-Dhabi, N. A., & Duraipandiyan, V. (2016). Biological Properties of Endophytic Fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 59: 1-7.
- Srivastava, M., Maheshwari, S., Kundra, T. K., & Rathee, S. (2017). Multi-response Optimization of Fused Deposition Modelling Process Parameters of ABS Using Response Surface Methodology (RSM)-based Desirability Analysis. *Materials Today: Proceedings*. 4(2): 1972-1977.
- Sunaryanto, R., Nurani, D., Riswoko, A., Nabilah, S., & Syamsu, K. (2019). Optimasi Media Kultivasi Senyawa Aktif *Penicillium lagenae* sebagai Antifungi Patogen *Phellinus lamaoensis* dengan Menggunakan *Response Surface Methodology*. *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. (pp. 410-420).

- Sundarram, A., & Krishna Murthy, T. P. (2014). α -Amylase Production and Applications. *Journal of Applied dan Environmental Microbiology*. 2(4) : 166–175.
- Syamsi, N., Kuswytasari N. D., dan Shovitri M. 2019. Pengaruh 1 ppm Ion Fe²⁺ dan Variasi pH Terhadap Aktivitas Alkana Hidroksilase Jamur *Aspergillus terreus*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 8 (2): 57-60.
- Tudzynski, B. (2014). Nitrogen Regulation of Fungal Secondary Metabolism in Fungi. *Frontiers in microbiology*. 5 (656): 1-16.
- Vardhan, M. V., Sankaraiah, G., Yohan, M., & Rao, H. J. (2017). Optimization of Parameters in CNC Milling of P20 Steel Using Response Surface methodology and Taguchi Method. *Materials Today: Proceedings*. 4(8): 9163-9169.
- Verma, S. K., Lal, M., & Das, M. D. (2017). Optimization of Process Parameters for Antimicrobial Metabolites by An Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. CPR5 Isolated from Calotropis Procera Root. *Asian J. Pharm. Clin. Res*. 10(4) : 225-230.
- Viogenta, P., Nurjanah, S., & Mulyani, Y. W. T. (2020). Isolasi Jamur Endofitik Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dan Analisis Potensi Sebagai Antimikroba. *Jurnal Pharmascience*. 7(1) : 72-83.
- Vo, T. N. M., Nguyen, D. N., & Nguyen, V. T. (2020). Optimization of culture conditions on the proliferation of *Aspergillus terreus* N-GL1 strain isolated from *Curcuma longa* L. by Design-Expert 6.0. 6 and BC Pharsoft Software. *In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 991(1): 1-8
- Wali, M., Tuharea, M. S., & Uar, N. S. (2018). Senyawa Kimia Kayu Marsegu (*Nauclea orientalis* L.). *Jurnal AGRIKAN*. 11(2) : 70-74.
- Wang, M., Gu, B., Huang, J., Jiang, S., Chen, Y., Yin, Y., Pan, Y., Yu, G., Li, Y., Wong., B. H. C., Liang, Y., & Sun, H. (2013). Transcriptome and Proteome Exploration to Provide a Resource for the Study of *Agrocybe aegerita*. *Plos One*. 8(2): 1-20.
- Wang, Y., & Dai C.C. (2011). Endophytes: A Potential Resource for Biosynthesis, Biotransformation, and Biodegradation. *Ann Microbiol*. 61:207–215.
- Wanke, M., Skorupinska-Tudek, K., & Swiezewska, E. (2001). Isoprenoid Biosynthesis via 1-Deoxy-D-Xylulose 5-Phosphate/ 2-C-Methyl-D-Erythritol 4-Phosphate (DOXP/MEP) Pathway. *Acta Biochimica Polonica*. 48(3): 663-672.
- Warsi, O. M., Andersson, D. I., & Dykhuizen, D. E. (2018). Differen Adaptive Strategies in *E. coli* Populations Evolving Under Macronutrient Limitation and Metal Ion Limitation. *BMC Evolutionary Biology*. 18(1): 1-15.

- Wicaksono, S., Kusdiyantini, E., & Raharjo, B. (2017). Pertumbuhan dan Produksi Pigmen Merah oleh *Serratia marcescens* pada Berbagai Sumber Karbon. *Jurnal Akademika Biologi*. 6(3) : 66-75.
- Wulandari, E., Idiyanti, T., & Sinaga, E. (2012). Limbah Molas: Pemanfaatan sebagai Sumber Karbohidrat untuk Perkembangbiakan Mikroorganisme. *Jurnal Kimia Valensi*. 2(5) : 565-572.
- Xie, J., Wei, J. G., Wang, K. W., Luo, J., Wu, Y. J., Luo, J. T., Yang, X.H., & Yang, X. B. (2020). Three Phytotoxins Produced by *Neopestalotiopsis clavisporea*, The Causal Agent of Ring Spot on *Kadsura coccinea*. *Microbiological Research*. 238 (126531): 1-6.
- Xiao, H., & Zhong, J. J. (2016). Production of Useful Terpenoids by Higher-Fungus Cell Factory and Synthetic Biology Approaches. *Trends in Biotechnology*. 34(3): 242-255.
- Xu, L. J., Liu, Y. S., Zhou, L. G., & 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.
- Yacobus, A. R., & Ghari, A. L. S. (2018). Identifikasi Senyawa Kimia Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) dari Kabupaten Timor Tengah Selatan Provinsi NTT secara Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Kolom. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*. 4(7): 5-10.
- Yuan JP, Kuang HC, Wang JH, Liu X (2008) Evaluation of Ergosterol and Its Esters in The Pileus, Gill, and Stipe Tissues of Agaric Fungi and Their Relative Changes in the Comminuted Fungal Tissues. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80 (3): 459– 465.
- Zajc, J., Kogej, T., Galinski, E. A., Ramos, J., & Gunde-Cimerman, N. (2014). Osmoadaptation Strategy of The Most Halophilic Fungus, *Wallemia ichthyophaga*, Growing Optimally at Salinities Above 15% NaCl. *Applied and Environmental Microbiology*. 80(1): 247-256.
- Zahwa, E. D. (2021). Optimasi Produksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Gelam (*Melaleuca cajuputi* Powell.) dengan Variasi Sumber Karbon, Nitrogen, dan pH. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya: Indralaya.
- Zha, J., Wu, X., Gong, G., & Koffas, M. A. (2019). Pathway Enzyme Engineering for Flavonoid Production in Recombinant Microbes. *Metabolic Engineering Communications*. 9: 1-8.