



JURNAL BIOSAINS

(Journal of Biosciences)

<http://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains>

email : jbiosains@unimed.ac.id



KURVA PERTUMBUHAN JAMUR ENDOFIT ANTIJAMUR CANDIDA DARI TUMBUHAN RARU (*Cotylelobium melanoxyton*) GENUS *Aspergillus*

Uswatun Hasanah

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan, Medan

Emil : uswatun.hasanah241@gmail.com

ABSTRAK

Mikroorganisme membutuhkan nutrisi dan faktor lingkungan yang sesuai untuk kelangsungan hidupnya. Salah satu mikroba tersebut adalah jamur endofit yang diperoleh dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kurva pertumbuhan jamur endofit antijamur *Candida albicans* genus *Aspergillus*. Metode yang digunakan adalah single dot, dengan mengukur koloni diameter setiap 24 jam selama 30 hari yang diinkubasi pada temperatur kamar (25°C).

Kata kunci : pertumbuhan, antijamur, jamur endofit

GROWTH CURVE ENDOPHYTIC ANTIFUNGAL FUNGI CANDIDA OF PLANTS RARU (*Cotylelobium melanoxyton*) *Aspergillus* genus

ABSTRACT

Microorganisms need nutrients and environmental factors that are suitable for their survival. One of these microbes is endophytic fungi obtained from raru plants (*Cotylelobium melanoxyton*). The purpose of this study was to determine the growth curve of endophytic antifungal fungi *Candida albicans* genus *Aspergillus*. The method used is a single dot, by measuring the diameter colony every 24 hours for 30 days which is incubated at room temperature (25°C).

Keywords: growth, antifungals, endophytic fungi

Pendahuluan

Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu jamur yang dapat menyebabkan infeksi yang dikenal dengan *Candidiasis*. *Candidiasis* dapat menyebabkan rasa tidak nyaman namun tidak membahayakan nyawa. Ada beberapa bentuk *candidiasis* yang serius dan memerlukan pengobatan medis, seperti *candidiasis* yang masuk ke aliran darah, yang juga dikenal sebagai *candidemia* atau *candidiasis invasive*, dapat mengakibatkan demam dan menggigil. *Candidiasis* dapat mempengaruhi area kelamin, mulut, kulit, dan darah. *Candidiasis* pada area kulit, menyebabkan bagian kulit berwarna merah atau putih yang gatal, perih, dan meradang (Brock, 2006). *Candidiasis* pada vagina disebut *yeast vaginitis*. Pada wanita, infeksi jamur pada vagina dapat mengakibatkan gejala rasa gatal yang ekstrem, kemerahan, serta rasa sakit pada area

vagina. Cairan vagina terlihat berwarna putih dan kental. Pada pria, gejala dapat meliputi rasa sakit, gatal, dan perih pada ujung penis. Pria dan wanita dapat merasakan sakit saat berhubungan seks (Starr dkk., 2012). *Candidiasis* pada mulut dan kerongkongan, sering disebut *thrush*, dapat menghasilkan bercak-bercak putih pada lidah dan mulut. Gusi juga dapat menjadi bengkak dengan luka berwarna merah dan putih. *Candida esophagitis* yang mempengaruhi kerongkongan dapat menyebabkan rasa sakit dan kesulitan saat menelan (Dantas dkk., 2003).

Untuk mengatasi meningkatnya berbagai penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk jamur patogen, perlu melakukan pencarian senyawa-senyawa yang bersumber hayati (Strobel, 2003; Devaraju dan Satih, 2010). Salah satu sumber hayati tersebut adalah jamur endofit yang menghasilkan senyawa yang dapat

digunakan sebagai antikanker, antijamur, antibakteri, antivirus, sitotoksik immunosupresan, insektisida serta penghasil beberapa enzim (Dutta dkk., 2014; Selim dkk., 2012; Strobel dan Daisy, 2003; Tomita, 2003; Visalakchi dan Muthumary, 2010 dan Zhao dkk., 2012).

Jamur endofit dapat ditemukan hampir pada setiap tumbuhan di dunia ini (Strobel dan Daisy, 2003). Namun keberadaan jamur endofit sampai saat ini relative kurang diteliti (Kharkwal dkk., 2008). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*). Tumbuhan ini dikategorikan masuk daftar merah (*red list*) sebagai tumbuhan yang terancam langka (*endangered*) yang ditetapkan oleh *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) pada tahun 1998 (Anonymous, 2012), padahal tumbuhan ini memiliki nilai yang tinggi dalam bidang kesehatan. Kulit batang tumbuhan raru biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai campuran *tuak* (minuman tradisional Batak) dan sebagai obat penurun kadar gula darah, memiliki aktifitas antioksidan (Pasaribu dan Setyawati, 2011) serta sebagai antidiare (Idrumsa dkk., 2015).

Fitri (2014) mengisolasi jamur endofit dari kulit batang tumbuhan raru Siarang (*Cotylelobium melanoxylo*) mendapatkan 38 isolat jamur endofit. Tiga puluh delapan isolat tersebut teridentifikasi dalam 10 Kluster/Genus berdasarkan hasil analisis *Simple Matching Coeficient* dengan menggunakan program MVSP melalui pengamatan ciri morfologi makroskopis dan mikroskopis. Kesepuluh genus tersebut adalah *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Debaromyces*, *Fusarium*, Hifa 1, Hifa 2, Miselia Steril, *Nigrospora*, *Scopulariopsis*. Isolat jamur endofit tersebut mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid dan flavonoid (Pratiwi, 2014). Hasil penelitian Nurhidayah (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid tersebut memiliki aktifitas sebagai anti jamur terhadap jamur *Candida albicans*. Penelitian Simanjuntak (2016) menemukan bahwa dari 32 isolat jamur endofit Tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*) yang memiliki aktifitas sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albinans* ada 20 isolat, yaitu isolat RSi 1, 2a, 2b, 4, 5, 8, 10a, 13,14, 15,16, 19, 21, 25, 26, 27, 29, 31, 32 dan 34. Dari 20 isolat tersebut yang tergolong genus *Aspergillus* adalah isolat RSi 8, 16 dan 27.

Kurva pertumbuhan jamur endofit anti jamur *Candida albicans* dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*) genus *Aspergillus* perlu diteliti untuk mendapatkan fase-fase pertumbuhannya. Selanjutnya dari kurva tersebut

dapat dipelajari fase pertumbuhan yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan aktifitas sebagai antijamur.

Pada artikel ini dideskripsikan kurva pertumbuhan isolat jamur endofit dari tumbuhan raru Siarang (*Cotylelobium melanoxylo*) genus *Aspergillus* yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan jamur patogen *Candida albicans* sehingga dapat dikembangkan sebagai sumber antimikroba baru.

Bahan dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan. Penelitian dimulai bulan Juni 2017 sampai Agustus 2017 (selama 3 bulan)

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Autoclave (Tomy, ES 315), timbangan analitis (AND, HR-200), Laminar Air Flow (Streamline, SHC-4A), lampu bunsen, *sentrifuge*, *erlemeyer*, gelas ukur, labu ukur, cawan petri, tabung reaksi, vortex (Biosan, V-32), jarum ose, jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : isolat jamur endofit yang telah diisolasi dari kulit batang tumbuhan raru Siarang (*Cotylelobium melanoxylo*) yang memiliki aktifitas sebagai antijamur terhadap jamur patogen *Candida albicans* yaitu isolat dengan diameter zona hambat lebih besar dari 24 mm adalah isolat RSi 8,16 dan 27 genus *Aspergillus*, diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Unimed. Media YGC (*Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar*), aquades steril, alkohol, kertas pembungkus, kapas, kertas label dan *plastic seal*, kertas millimeter blok, penggaris dan pinsil.

Prosedur Penelitian

Metode yang digunakan untuk mencapai tujuan penelitian ini adalah melakukan penelitian deskriptif eksploratif laboratoris, dengan tahap penelitian sebagai berikut: 1). Membuat media YGC (*Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar*), (2). Meremajakan jamur endofit pada media miring yang berisi media YGC, (3). Menanam isolat jamur endofit pada cawan petri dengan metode single dot dengan cara ditanam menggunakan jarum ose dan ditusukkan di bagian tengah permukaan agar. Diinkubasi pada suhu kamar $\pm 25^{\circ}\text{C}$. (4). Mengamati pertumbuhan isolat jamur endofit setiap hari (24 jam) selama satu bulan (30 hari) dengan mengukur besarnya diameter pertumbuhan jamur (mm)

Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif. Data hasil pengamatan pertumbuhan jamur endofit selama satu bulan berupa diameter pertumbuhan jamur endofit dalam satuan mm dibuat kurva pertumbuhan. Dari kurva tersebut ditentukan fase-fase pertumbuhan yang dilalui oleh jamur endofit

genus *Aspergillus* yang memiliki aktifitas sebagai antijamur *patogen Candida albicans*.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil pengukuran diameter koloni jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxydon*) genus *Aspergillus* yang memiliki aktifitas sebagai antijamur terhadap jamur patogen *Candida albicans* disajikan pada Tabel 1 berikut ini.

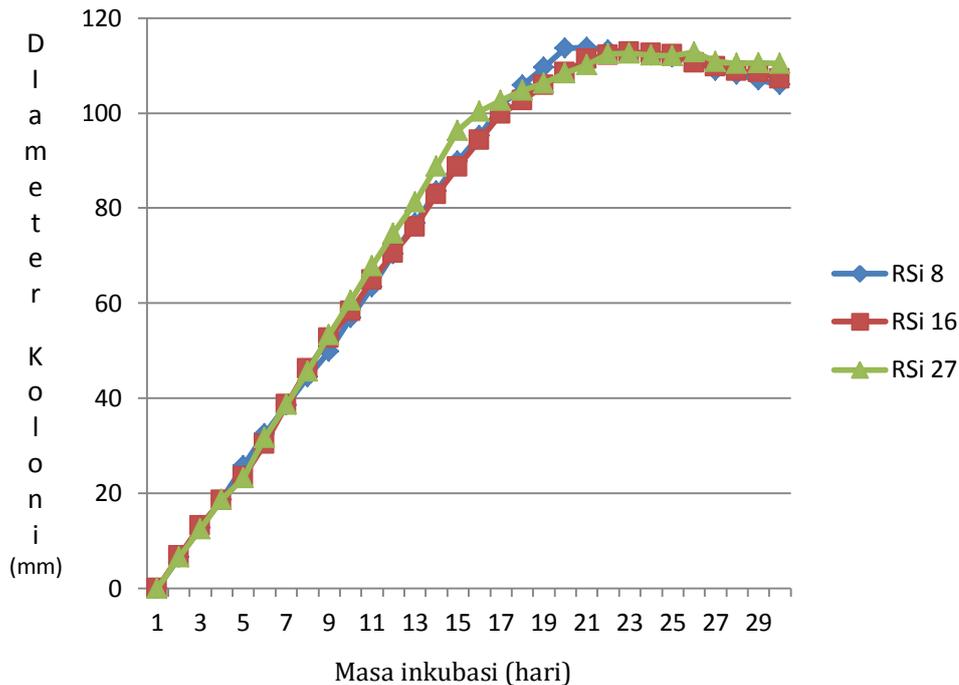
Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Pertumbuhan Jamur Endofit Dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxydon*) Genus *Aspergillus*

Waktu inkubasi (HIS)	Rata-rata Diameter Koloni (mm) Isolat Jamur Endofit		
	RSi 8	RSi 16	RSi 27
1	0	0	0
2	6.6	6.8	6.6
3	12.8	13.2	12.5
4	18.7	18.5	18.6
5	25.8	23.5	23.25
6	32.5	30.4	31.66
7	38.56	38.63	38.66
8	44.42	46.26	45.68
9	49.82	52.68	53.39
10	56.96	58.24	60.64
11	63.46	64.88	67.88
12	70.42	70.49	74.64
13	76.84	76.08	81.26
14	83.62	82.84	88.78
15	89.84	88.68	96.28
16	95.26	94.26	100.4
17	101.4	99.88	102.6
18	105.8	102.7	104.8
19	109.6	105.8	106.2
20	113.6	108.5	108.4
21	113.8	111.4	110.2
22	113.2	112.2	112.4
23	112.8	112.8	112.6
24	112.2	112.6	112.2
25	111.8	112.3	112.0
26	111.0	110.6	112.8
27	109.0	109.8	110.8
28	108.2	108.8	110.4
29	107	108.6	110.6
30	106	107.2	110.4

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa ada pertumbuhan dari jamur endofit antijamur *Candida albicans* dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxydon*) yang ditandai dengan terbentuknya koloni jamur, yang dapat diukur diameternya. Makin lama waktu inkubasi maka makin besar diameter koloni jamur endofit antijamur *Candida albicans*. Menurut Devise (1987), untuk mengisolasi jamur dipergunakan media pembiakan yaitu suatu bahan yang terdiri dari suatu campuran nutrisi/zat-zat makanan

tertentu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan jamur. Isolasi jamur juga memerlukan suatu habitat yang mempunyai kelembaban tinggi dan oksigen yang cukup untuk kelangsungan hidupnya.

Dari data diameter pertumbuhan jamur endofit pada Tabel 1 di atas dapat dibuat kurva pertumbuhan jamur endofit tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxydon*) genus *Aspergillus* yaitu isolate RSi 8, 16 dan 27, seperti disajikan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Jamur Endofit Antijamur *Candida albicans* dari Tumbuhan Raru (*Cotylobium melanoxyton*) Genus *Aspergillus*

Dari gambar 1 dapat dijelaskan kurva pertumbuhan jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylobium melanoxyton*) antijamur *Candida albicans* isolat RSi 8, 16 dan 27 Genus *Aspergillus*. Untuk Jamur endofit isolat RSi 8 fase adaptasi dimulai dari hari kedua sampai dengan hari ke tiga. Fase pertumbuhan awal dimulai hari ke empat sampai hari ke enam. Fase logaritmik/eksponensial dimulai hari ke tujuh sampai hari ke 21. Pada hari ke 22 mulai memasuki fase pertumbuhan lambat sampai hari ke 25, sedangkan hari ke 26 sampai hari ke 28 mulai memasuki fase stasioner/statis. Hari 29 mulai memasuki fase menuju kematian dan fase kematian. Untuk jamur endofit isolat RSi 16 dan RSi 27, fase logaritmik/eksponensial dimulai hari ke tujuh sampai hari ke 23. Fase pertumbuhan lambat dimulai hari ke 24 sampai hari ke 26. Fase stasioner/statis dimulai hari ke 27 sampai hari ke 29 dan fase kematian dimulai hari ke 30.

Dari penjelasan kurva pertumbuhan jamur endofit di atas, dapat dinyatakan bahwa masing masing isolat mengalami fase-fase pertumbuhan dengan waktu yang berbeda-beda. Menurut Suprihatin (2010) lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya : (1). Medium dan lingkungan pertumbuhan. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan

waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim. (2). Jumlah inokulum. Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

Fase lag dari jamur endofit genus *Aspergillus* pada penelitian ini dapat dilihat pada hari ke 7-21 untuk isolat RSi 8 dan untuk isolat RSi 16 dan RSi 27 fase logaritmik hari ke 7-23. Fase ini merupakan fase perbanyakan sel yang sangat banyak dan aktivitas sel meningkat. Moore-Landecker, (1996) menyatakan bahwa pada fase lag, sel-sel menyesuaikan dengan lingkungan dan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat lebih lama. Media YGC yang digunakan mengandung glukosa 20.0 g/L. Glukosa merupakan karbohidrat sederhana, sehingga isolat-isolat jamur endofit genus *Aspergillus* lebih mudah mencerna nutrisi yang menghasilkan pertumbuhan lebih cepat. Metabolisme karbohidrat pada jamur diawali dengan tahap transpor, kecuali untuk di-atau trisakarida yang harus dihidrolisis terlebih dahulu di luar sel. Transpor monosakarida melalui membran dilakukan oleh suatu protein transpor spesifik, yaitu permease (Flores et al., 2000).

Pada fase logaritmik/eksponensial, mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak

daripada fase lainnya. Pada fase ini kultur paling sensitif terhadap keadaan lingkungan (Suprihatin, 2010).

Pada fase pertumbuhan lambat, pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena beberapa sebab : (1). Zat-zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang. (2). Adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada fase ini jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dari pada jumlah sel yang mati (Suprihatin, 2010).

Pada fase pertumbuhan tetap/statis, jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia (Suprihatin, 2010).

Pada fase menuju kematian dan fase kematian, sebagian mikroba mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu : (1). Nutrien di dalam medium sudah habis. (2). Energi cadangan di dalam sel habis. Kecepatan kematian tergantung dari kondisi nutrien, lingkungan dan jenis mikroba (Suprihatin, 2010).

Jalur-jalur reaksi yang menyusun metabolisme dapat dibagi menjadi dua yaitu katabolisme dan anabolisme. Pada katabolisme, senyawa-senyawa kompleks diuraikan menjadi produk lebih sederhana. Energi yang dibebaskan disimpan dalam bentuk Adenosin Difosfat (ADP) dan fosfat. Dapat juga melalui reduksi koenzim Nikotinamid Adenin Dinukleotida (NADP⁺) menjadi Nikotinamid Adenin Dinukleotida Fosfat Hidrogen (NADPH). ATP dan NADPH adalah sumber energi untuk jalur-jalur anabolisme (Voet & Voet, 1995). Pada anabolisme berlangsung pembentukan senyawa-senyawa kompleks dari nutrien-nutrien sederhana yang berasal dari lingkungan. Apabila dihasilkan materi sel baru, maka anabolisme disebut juga sebagai biosintesis. Aktivitas pengurai dan sintesis, atau disimilasi dan asimilasi, saling terkait satu sama lain (Madigan et al., 2002).

Kesimpulan Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa : Kurva pertumbuhan jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*) genus *Aspergillus* yang memiliki aktifitas antijamur terhadap jamur

patogen *Candida albicans* dapat menunjukkan fase-fase pertumbuhan yang dilalui oleh isolat jamur endofit tersebut.

Saran

Setelah diketahui fase-fase pertumbuhan jamur endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylo*) genus *Aspergillus* yang memiliki aktifitas antijamur terhadap jamur *Candida albicans* maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan guna mengetahui fase pertumbuhan yang menghasilkan metabolit sekunder antijamur serta faktor-faktor yang mempengaruhinya.

Daftar Pustaka

- Anonymous. (2012). *The IUCN Red List of Threatened Species: Cotylelobium melanoxylo*. (www.iucnredlist.org/details/33070/0). Diakses tanggal 22 Desember 2012.
- Brock, D.L. (2006). *Infection Fungi*. Chelsea House Publishing, New York.
- Dantas, A.S., Day, A., Ikeh, M Kos, I., Kos, B dan Quinn, J. (2015). Oxidative stress responses in the human fungal pathogen, *Candida albicans*. *Biomolecules* 5: 142-165.
- Devaraju, R dan Satish, S. (2010). Endophytic fungi : 'Trapped' or 'hidden' store house of bioactive compounds within plants : A review, *Journal of Pharmacy Research* 3 (12) : 2986-2989.
- Devise HC. 1987. Medically Important Fungi. 2th nd. New York.
- Dutta, D., Puzari, K.C., Gogoi, R dan Dutta, P. (2014). Endopyges : Exploitation as a tool in plant protection. *Braz. Arch. Biol. Technol* 57(5) : 621-629.
- Fitri, M.S. (2014). Identifikasi Jamur Endofit dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylo*). Skripsi . Jurusan Biologi FMIPA Unimed. Medan.
- Flores, C.L., C. Rodriguez, T. Petit & C. Gancedo.2000. Carbohydrate and energyyielding metabolism in non-conventional yeasts. *FEMS Microbial Rev.* 24: 507-529.
- Idramsa, Soetarto, E.S., Nugroho, L.H., Pratiwi, R dan Prasetya, E. (2015). Endophytic bacteria inducing antibacterial synthetis of the bark of Raru (*Cotylelobium melanoxylo*). *European Journal of Experimental Biology* 5(9): 20-26.
- Kharkwal, A.C., Kharkwal, H., Sherameti, I., Oelmuller, R dan Varma, A. (2008). Novel symbiotrophic endophytes. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* : 753-766.

- Madigan, M.T., J.M. Martinko & J. Parker. 2002. Brock biology of microorganisms. 10th ed. Prentice Hall International Inc., Englewood Cliff.
- Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of the fungi. , E. 1996. Fundamentals of the fungi. 4th edition. Prentice Hall International, Inc., New Jersey, pp 576.
- Nurhidayah. (2014). Pengaruh Ekstrak Metabolit Sekunder Jamur Endofit Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxyton*) dalam Menghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Unimed. Medan.
- Pasaribu, G dan Setyawati, T. (2011). Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak kulit kayu raru (*Cotylelobium* sp.) *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* **29(4)**: 322-330.
- Pratiwi, E. (2014). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Jamur Endofit dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxyton*). Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Unimed. Medan.
- Selim, K.A., El-Beih, A.A., Abd El-Rahman, T.M. dan El-Diwany, A.I. (2012). Biology and endophytic fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* **2(1)**:31-82.
- Simanjuntak, J.F. (2016). Uji Aktivitas Antijamur *Candida albicans* Oleh 32 Isolat Jamur Endofit Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxyton*). Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Unimed. Medan
- Starr, C., Taggart, R., Evers, C. dan Starr, L. (2012). *Biologi, Kesatuan dan Keceragaman Makhluk Hidup. Edisi 12 Buku 1* (terjemahan Bahasa Indonesia) oleh Yenny Prasaja. Salemba Teknika. Jakarta.
- Sternberg, S. (1994). The emerging fungal threat. *Science* **266(5191)**: 1632-1635.
- Strobel G.A. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*. 5. 535-544.
- Strobel G, and Daisy B, (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products, *Microbiology and Molecular Biology Review* **67**: 491-502.
- Suprihatin. (2010) .Teknologi Fermentasi. ISBN : 978-602-8915-50-2. Penerbit UNESA Press
- Tomita, F. (2003). Endophytes in Southeast asia and japan: their taxonomic diversity and potential application. *Fungal Diversity* **14**: 187-204.
- Visalakchi, S. dan Muthumary, J. (2010). Taxol (anticancer drug) producing endophytic fungi : An overview. *International Journal of Pharma and Bio Science* **1(3)**: 1-9.
- Voet, D. & J. Voet. 1995. Biochemistry. 2nded. John Wiley & Sons. Inc. new York: XVII +1361 pp.
- Zhao, J. H., Zhang, Y. L., Wang, L. W., Wang, J. Y., dan Zhang, C. L., (2012), Bioactive Secondary Metabolites from *Nigrospora* sp. LLGLM003, An Endophytic Fungus of The Medicinal Plant *Moringa oleifera* Lam., *World J Microbiol Biotechnol* **28**: 2107-2112.