

**AKTIVITAS INHIBISI EKSTRAK ETIL ASETAT BAKTERI  
ENDOFIT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L) TERHADAP  
VIABILITAS KHAMIR *Saccharomyces***

***(Inhibition Activity of Ethyl Acetate Extract of Endofit Bacteria from  
Soursop Leaves (*Annona muricata* L) against *Saccharomyces* Yeast  
Viability)***

Sriwijayanti<sup>1</sup>, Maria Bintang<sup>2</sup>, dan Akhmad Endang Zainal Hasan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten

<sup>2</sup>Jurusan Biokimia, Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor

**ABSTRAK**

Indonesia memiliki banyak tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat, salah satunya adalah tanaman sirsak. Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan baik pada daerah tropis seperti Indonesia. Bagian daun dari tanaman sirsak dilaporkan mengandung asetogenin (ACGs) yang mampu berperan sebagai antikanker. Mikroba endofit diketahui banyak tumbuh pada daun sirsak secara simbiotik dengan membentuk koloni selama periode tertentu berupa bakteri dan kapang. Beberapa bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang karakteristiknya sama dengan senyawa yang diproduksi oleh inangnya. Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu organisme uniseluler eukariot yang telah banyak digunakan sebagai model organisme untuk mempelajari fisiologi sel manusia dan mempelajari mekanisme regulasi apoptosis. Aktivitas inhibisi pada penelitian ini diteliti dengan uji viabilitas menggunakan indikator MTT dan menghitung frekuensi petik dengan uji petik. Hasil uji viabilitas didapatkan nilai absorbansi yang terendah yaitu 1.172 (sampel 4) dan 1.389 (sampel 7). Nilai frekuensi petik cukup tinggi pada konsentrasi 100 ppm yaitu mencapai lebih dari 85%, sedangkan frekuensi tertinggi pada ekstrak Sir-C41 terdapat pada konsentrasi 150 ppm yang hampir mencapai 100%. Hasil ini dapat dijadikan acuan praduga untuk pengujian *in vitro* pada kultur sel kanker. Dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit memiliki aktivitas inhibisi terhadap sel khamir *Saccharomyces cerevisiae*.

**Kata kunci:** daun sirsak, *Saccharomyces*, khamir.

**ABSTRACT**

Indonesia has many plants that have the potential as medicinal plants, one of which is the soursop plant. Soursop (*Annona muricata* L.) is a plant that can grow well in tropical regions such as Indonesia. The leaf part of the soursop plant is reported to contain acetogenin (ACGs) which is capable of acting as an anticancer. Endophytic microbes are known to grow in symbiotic soursop leaves by forming colonies during certain periods of bacteria and mold. Some endophytic bacteria produce bioactive compounds whose characteristics are the same as those produced by their hosts. Yeast

**E-mail:** [jurnal.itekima@stakc.ac.id](mailto:jurnal.itekima@stakc.ac.id)

*Saccharomyces cerevisiae* is one of the unicellular eukaryotic organisms that has been widely used as a model of organisms to study human cell physiology and study the regulatory mechanisms of apoptosis. In this study inhibition activity was carried out by viability test by using MTT indicator and calculating petit frequency by petit test. The results of the viability test obtained the lowest absorbance value of 1,172 (sample 4) and 1,389 (sample 7). While the value of petit frequency is quite high at a concentration of 100 ppm which reaches more than 85%, while the highest frequency in Sir-C41 extract is found at a concentration of 150 ppm which almost reaches 100%. These results can be used as a reference presumption for in vitro testing of cancer cell cultures. In this study, endophytic bacteria produced inhibitory activity against yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*.

**Keywords:** soursol leaves, *Saccharomyces*, yeast.

## **1. PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki banyak tanaman-tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat, salah satunya adalah sirsak. Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Latin dan merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan baik pada daerah tropis termasuk Indonesia (Suhendar, 2015). Sirsak adalah tanaman obat yang secara empiris memiliki aktivitas sebagai agen antikanker. *Annonaceous acetogenins* (ACGs) yang terkandung dalam tanaman sirsak yang mampu berperan sebagai antikanker (Retnani, 2011). Salah satu bahan alami yang memiliki potensi antikanker tersebut terdapat pada daun sirsak.

Daun sirsak adalah salah satu bagian dari tanaman sirsak yang secara empiris banyak digunakan sebagai obat. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun sirsak diduga erat kaitannya dengan keberadaan mikroba endofit dalam tanaman tersebut. Keberadaan mikroorganisme endofit dari daun sirsak sangat memungkinkan untuk ditemukan berbagai macam senyawa kimia baru yang berpotensi besar sebagai bahan baku obat.

Penelitian yang mempelajari potensi mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif telah banyak dilakukan. Senyawa bioaktif yang dihasilkan antara lain senyawa antikanker, antimikroba, dan sebagainya. Keberadaan bakteri endofit pada daun sirsak diketahui sangat tinggi dan sebagian besar studi hanya mengkaji tentang kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini

berfokus pada potensi ekstrak bakteri endofit terhadap viabilitas sel-sel khamir *saccharomyces cerevisiae*.

*Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan sebagai salah satu model sel eukariot yang sekuens genom lengkapnya sangat bermanfaat sebagai referensi bagi sekuens gen manusia dan makhluk eukariot lainnya (Rempola *et al*, 2001; Rahman, 2015). Shahidi *et al.* (2002) menjelaskan bahwa *S. cerevisiae* dapat dimanipulasi sehingga merupakan model yang sempurna sebagai sel eukariot untuk uji antikanker. Uji antikanker menggunakan *S. cerevisiae* didasari oleh kemampuan senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae* pada media tumbuh. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi tentang aktivitas bakteri endofit terhadap viabilitas khamir *saccharomyces cerevisiae* sebagai praduga antikanker. Melihat belum diketahuinya manfaat dan aktivitas biologis bakteri endofit dari daun sirsak, maka dibutuhkan penelitian bakteri endofit ini dengan mengamati aktivitasnya terhadap viabilitas *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengungkap potensinya sebagai antikhamir bahkan sebagai indikasi antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak etil asetat bakteri endofit daun sirsak terhadap viabilitas *Saccharomyces cerevisiae* dan diharapkan dapat memberikan informasi tentang bakteri endofit dari daun sirsak yang memiliki aktifitas penghambatan viabilitas *Saccharomyces cerevisiae* serta dapat dijadikan sebagai acuan dan pertimbangan dalam penelitian lebih lanjut ekstrak bakteri endofit daun sirsak sebagai indikasi antikanker.

## **2. BAHAN DAN METODE**

### **Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah 12 isolat bakteri daun sirsak, 2 isolat berasal dari Sukabumi (Sir-S54, Sir-S42), 5 isolat berasal dari Cianjur (Sir-C41, Sir-C22, Sir-C13, Sir-C41, Sir-C52) dan 5 isolat berasal dari Garut (Sir-G45, Sir-G52, Sir-G33, Sir-G41, Sir-G35), *brain heart infusion* (BHI), akuades steril, alkohol 70%, etil asetat, *yeast extract peptone dextrose* (YEPD), khamir *Saccharomyces cerevisiae*, DMSO, MTT, glukosa 2% dan etanol.

Alat yang digunakan pada percobaan adalah neraca analitik, gelas ukur, *erlenmeyer*, cawan petri, rak tabung, korek api, botol kaca, bunsen, pH meter, *magnetic stirrer*, inkubator, gelas piala, *aluminium foil*, autoklaf, tissue, plastik *wrap*, gelas ukur, plastik, karet, tabung reaksi, *sentrifuge*, *shaker*, pipet tetes, pipet mikro, lemari es dan *freezer*, *rotary evaporator*, *effendorf*, batang penyebar, *microplate 96 wells*, dan *microplate reader*.

### **Kultivasi Isolat**

Isolat bakteri endofit yang telah diremajakan masing-masing diinokulasikan ke dalam tabung erlenmeyer berisi 200 mL media BHI. Tiap tabung erlenmeyer dilakukan fermentasi dengan menggunakan *shaker* orbital pada suhu kamar selama 24 jam.

### **Ekstraksi Kultur Bakteri Endofit**

Isolat yang telah dikultivasi kemudian dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan senyawa utama bakteri endofit. Isolat bakteri yang tumbuh dalam media BHI 200 mL kemudian ditambahkan pelarut etil asetat 200 mL sampai volume terbaca pada erlenmeyer sebesar 500 mL. Setelah bakteri yang tumbuh terendam dalam larutan etil asetat kemudian dikocok manual menggunakan corong pisah selama 15 menit, hal ini dilakukan untuk melarutkan senyawa bakteri endofit yang didapat pada larutan etil asetat. Kemudian larutan atas fraksi dituangkan dalam labu didih, lapisan kedua fraksi tidak boleh sampai ikut masuk labu didih. Lapisan atas fraksi dievaporasi dengan evaporator dalam kondisi vakum, suhu air bak 30°C dan setelah selesai ditimbang bobot ekstrak bakteri endofit yang dihasilkan.

### **Skrining Viabilitas Khamir *S.Cerevisiae* dengan Indikator *Methyl Thiazol Tetrazolium* (MTT)**

Skrining viabilitas khamir dilakukan dengan menggunakan indikator MTT yang ditetesi pada lubang kecil yang disebut *microplate* dengan *96 well plate* (Mishra *et al.*, 2008; Rahman, 2015). Ekstrak yang akan diujikan terlebih dahulu dilarutkan dengan 0.5 mL DMSO kemudian diencerkan dengan akuades steril hingga diperoleh konsentrasi 512  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Sebanyak 12 ekstrak bakteri endofit diencerkan dengan aquades hingga konsentrasi 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , kemudian pada setiap sumur dimasukkan 50  $\mu\text{L}$  ekstrak, dan 50

$\mu\text{L}$  media BHI 2x. Tiap kolom yang telah berisi campuran media dan berbagai ekstrak tersebut ditanami dengan 10  $\mu\text{L}$  suspensi khamir, perlakuan ini dilakukan 3 kali ulangan. Selanjutnya, campuran tersebut diinkubasi sekaligus di *shaker* dengan suhu ruang selama 24 jam.

Pertumbuhan khamir diamati dengan cara melihat kekeruhannya. Setelah itu, campuran tersebut yang telah diinkubasi selama 24 jam ditambahkan 10  $\mu\text{L}$  MTT konsentrasi 20  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  dan diinkubasi selama 1 jam. Setelah itu, campuran tersebut ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  isopropanol 0,04 M HCl. selanjutnya campuran tersebut diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Setelah itu dilihat nilai absorbansi pada setiap sampel. Viabilitas sel khamir akan semakin tinggi jika nilai absorbansi yang dimiliki sampel tinggi.

#### **Identifikasi Perubahan Bentuk Sel dengan Uji Petit (Granot *et al.*, 2003)**

Uji petit dilakukan dengan beberapa tahap penyiapan kultur khamir. Perlakuan kultur khamir dengan ekstrak dan uji frekuensi petit.

#### **Penyiapan Kultur *Saccaromyces cerevisiae* (Granot *et al.* 2003, Lusiana 2010)**

Sel khamir pada proses peremajaan, ditumbuhkan pada media padat YEPD yang memiliki komposisi 1% *yeast extract*, 2% baktopepton, 1% glukosa, 1,8% bakto agar serta aquades 200 mL. Sel diinkubasi pada suhu 28 °C selama 2 hari.

Sel khamir yang telah diremajakan sebanyak dua *ose* dipindahkan ke dalam 200 mL medium cair YEPD suhu 28 °C sampai fase *stasioner* selama 4 hari. Setelah 4 hari khamir disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm, suhu 4 °C, selama 10 menit. Pelet yang didapat dicuci 2 kali dengan 40 mL aquades.

#### **Perlakuan Sel Khamir *Saccaromyces Cerevisiae* dengan Ekstrak**

Sel khamir yang telah diremajakan sebanyak dua *ose* dipindahkan ke dalam 200 mL medium cair YEPD suhu 28 °C sampai fase *stasioner* selama 4 hari. Komposisi medium cair penumbuh khamir (YEPD) adalah 1% *yeast extract*, 2% pepton, dan 0.1% glukosa serta aquades 200 mL. Setelah 4 hari khamir disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm, suhu 4°C, selama 10 menit. Pelet yang didapat dicuci 2 kali dengan 40 mL aquades. Pelet sebanyak 600  $\mu\text{L}$  ditambahkan ekstrak 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200

ppm dan 250 ppm kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Ekstrak diganti dengan akuades untuk kontrol negatif, dan ekstrak diganti dengan glukosa 2% untuk kontrol positif.

### **Uji Frekuensi Petit**

Sebanyak 50 µL larutan hasil inkubasi perlakuan pada 37 °C selama 24 jam, disebarkan ke media petit dan YEPD dan diinkubasi pada 28 °C. Komposisi media petit adalah 1% *yeast extract*, 2% pepton, dan 0.1% glukosa, 1.8% agar, 2 mL etanol 2% serta akuades. Setelah 24 jam koloni yang muncul dihitung. Sel-sel khamir yang mengalami petit, koloninya akan tampak berukuran lebih kecil dibandingkan dengan sel-sel khamir normal. Sel-sel khamir yang mengalami petit dihitung frekuensi petitnya berdasarkan jumlah koloni petit dengan rumus:

$$\frac{\sum \text{koloni petit}}{\sum \text{koloni petit} + \sum \text{koloni normal}} \times 100\%$$

### **Analisis Data**

Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Model rancangan tersebut adalah:  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$  ( $\mu$  = pengaruh rata-rata umum;  $\tau_i$  = pengaruh rata-rata ke- $i$ ,  $i=1, 2, 3, 4$ ;  $\varepsilon_{ij}$  = pengaruh galat perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$ ;  $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$ ;  $Y_{ij}$  = pengamatan perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$ ). Data yang telah diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) pada selang kepercayaan 95% dan taraf  $\alpha = 0.05$ , uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan. Semua data dianalisis dengan program SPSS.

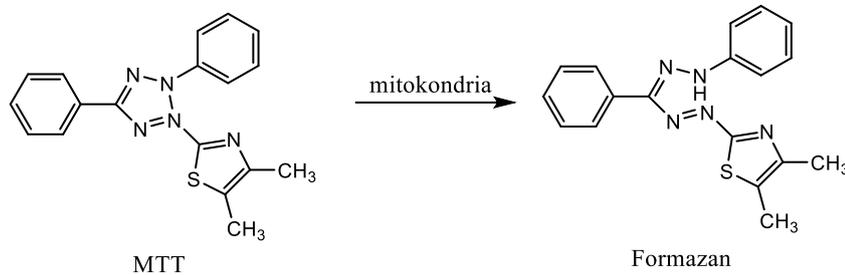
## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Viabilitas Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dengan Indikator MTT**

Aktivitas inhibisi ekstrak bakteri endofit dari daun sirsak dilakukan dengan uji viabilitas dengan menggunakan indikator *methyl thiazol tetrazolium* (MTT). Aktivitas ini dihasilkan oleh kesamaan karakteristik fitokimia pada tanaman inangnya (Tan zou, 2001). Kandungan fitokimia pada tanaman sirsak dimungkinkan memiliki karakteristik sama dengan karakteristik bakteri endofit yang tumbuh secara simbiosis pada tanaman sirsak. Hal ini diakibatkan mikroba yang tumbuh pada jaringan tanaman inang

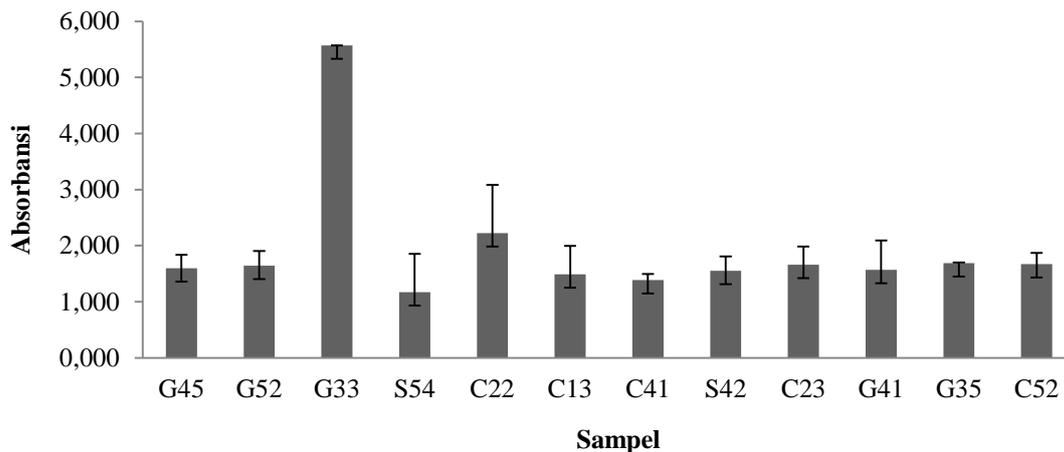
*E-mail: jurnal.itekima@stakc.ac.id*

mengalami kombinasi aktivitas antara tanaman sirsak dengan mikroba endofit, sehingga terjadi transfer genetik antara keduanya.



**Gambar 1. Reaksi pembentukan formazan yang terjadi dalam sel**

Prinsip Indikator MTT ini adalah reaksi redoks yang terjadi di dalam sel (Gambar 1). *Methyl thiazol tetrazolium* (MTT) direduksi menjadi garam formazan oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat di dalam mitokondria sel hidup.



**Gambar 2. Aktivitas inhibisi terhadap viabilitas khamir *saccharomyces cerevisiae***

Kemampuan viabilitas khamir dapat dilihat dari terbentuknya garam formazan tersebut, dan dapat dilihat dari perubahan warna yang terbentuk. Adanya gelembung CO<sub>2</sub> dan tercium bau khas fermentasi oleh khamir menandakan sel khamir mengalami pertumbuhan sel cukup baik. Sel khamir ini tumbuh subur jika ditumbuhkan pada media YEPD disebabkan sel khamir tersebut memperoleh cukup nutrisi. Sedangkan pada media petit, sel-sel khamir tidak memperoleh cukup nutrisi disebabkan kurangnya sumber karbon yang tersedia di dalam sel, akibatnya sel mengalami perubahan menjadi koloni petit. Hasil uji pada penghambatan aktivitas etil asetat bakteri endofit daun sirsak

ini dilakukan skrining dengan indikator MTT ditandai dengan adanya perubahan warna dan nilai absorbansi. Nilai absorbansi yang terendah yaitu 1.172 (sampel 4) dan 1.389 (sampel 7). Adapun sampel 3 memiliki nilai absorbansi yang tertinggi, menandakan bahwa viabilitas khamir tinggi dan aktivitas inhibisi semakin rendah.

### **Kemampuan Ekstrak Bakteri Endofit dalam Menghambat Pertumbuhan Khamir *S.cerevisiae* dengan Uji Petit (Granot *et al.*, 2003)**

Telah dilaporkan bahwa koloni khamir yang mengalami apoptosis dapat dibedakan dari koloni normal. Salah satu petanda koloni yang mengalami apoptosis yaitu berubah menjadi koloni petit disebabkan karena kehilangan kemampuan respirasi pada mitokondria (disfungsi mitokondria) akibat proses apoptosis sehingga laju pertumbuhan sel-sel khamir yang mengalami apoptosis jauh lebih lambat dari sel-sel khamir normal (Madigan *et al.*, 2000; Lusiana, 2010).

Komposisi media petit yang digunakan untuk uji petit ini sedikit berbeda dengan media standar (YEPA). Konsentrasi glukosa pada media petit dibuat seminimal mungkin untuk hanya menumbuhkan sel khamir yang petit.

Sel khamir yang mengalami perubahan petit akibat disfungsi mitokondria menyebabkan sel khamir tidak dapat memanfaatkan etanol sebagai sumber karbon sebagai sumber energinya. Sel khamir yang telah mengalami petit dapat tetap tumbuh namun dengan ukuran yang kecil dengan konsentrasi glukosa yang minimum. Sedangkan sel tidak mengalami petit dapat memanfaatkan etanol sebagai sumber karbon karena mitokondrianya tidak mengalami kerusakan sehingga sel khamir tetap tumbuh dengan baik.

Berdasarkan hasil skrining tersebut dilanjutkan uji petit untuk menghitung frekuensi petit. Uji petit yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan kontrol glukosa sebagai kontrol positif karena menurut Granot dan Snyder (1991), glukosa 2% dapat menginduksi apoptosis pada sel khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) dan kontrol akuades sebagai kontrol negatif. Berikut tabel frekuensi petit dengan konsentrasi bertingkat.

**Tabel 1. Frekuensi petir ekstrak bakteri endofit dengan konsentrasi bertingkat**

Sampel	Sel Petit	Sel Normal	Frekuensi Petit (%)
Sir-S54 <sup>a</sup>	3	2	60,0 ± 10,6
Sir-S54 <sup>b</sup>	21	3	87,5 ± 6,0
Sir-S54 <sup>c</sup>	2	3	60,0 ± 0,0
Sir-S54 <sup>d</sup>	1	3	25,0 ± 42,9
Sir-S54 <sup>e</sup>	1	2	33,3 ± 16,8
Sir-C41 <sup>a</sup>	5	2	71,4 ± 8,1
Sir-C41 <sup>b</sup>	9	2	81,8 ± 34,3
Sir-C41 <sup>c</sup>	540	2	99,6 ± 0,1
Sir-C41 <sup>d</sup>	287	2	99,3 ± 0,003
Sir-C41 <sup>e</sup>	1	1	50,0 ± 17,7
K(Aq)	1	28	3,4 ± 0,4
K (Gl)	360	0	100,0 ± 0,0

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat frekuensi petir dengan induksi oleh glukosa menunjukkan hasil yang positif, glukosa memberikan pengaruh untuk membuat sel khamir menjadi petir. Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa sel yang sedang mengalami apoptosis akan menunjukkan karakteristik morfologis antara lain pengerutan sel atau petir (Ligr *et al.*, 1998).

Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa jumlah petir pada kontrol glukosa 2% sangat tinggi hingga mencapai 100% sedangkan pada kontrol akuades terlihat jumlah petirnya hanya 3,4% (Tabel 1). Glukosa dapat menyebabkan kematian sel khamir dalam beberapa jam tanpa penambahan nutrisi lain untuk mendukung pertumbuhannya. Glukosa dapat memicu kematian sel yang ditandai dengan kerusakan membran, degradasi RNA dan DNA, fragmentasi dan penyusutan inti sel (Granot *et al.*, 2003). Kemampuan ekstrak Sir-S54 dalam menghambat apoptosis sel khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) cukup tinggi pada konsentrasi 100 ppm yaitu mencapai lebih dari 85%, sedangkan frekuensi tertinggi pada ekstrak Sir-C41 terdapat pada konsentrasi 150 ppm yang hampir mencapai 100%.

#### **4. KESIMPULAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bakteri endofit dari daun sirsak yang memiliki aktivitas inhibisi tertinggi terhadap viabilitas khamir *saccharomyces cerevisiae* adalah ekstrak Sir-S54 dengan nilai penghambatan 1.172 dan nilai frekuensi petit 87.5% dan ekstrak Sir-C41 dengan nilai penghambatan 1.389 dan nilai frekuensi petit mencapai 99.6%.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Granot D, & Snyder M. 1991. Glucose induces cAMP-independent growth-related changes in stationary-phase cells of *Saccharomyces cereviceae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 88: 5724-5728.
- Granot D, Levine A, & Dor-Hefetz E. 2003. *Sugar-Induced apoptosis in yeast cells*. Elsevier 4:7-13.
- Ligr M, Madeo F, Frohlich E, Hilt W, Fröhlich KU, & Wolf DH. 1998. Mammalian bax triggers apoptotic change in yeast. *FEBS Letters*. 438: 61-65.
- Lusiana. 2010. Kemampuan antioksidan asal tanaman obat dalam modulasi apoptosis sel khamir (*Saccaromyces cerevisiae*) [Tesis]. Bogor (ID): Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Madigan MT, Martinko JM, & Parker J. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. Edisi ke-9. New Jersey: Prentice Hall.
- Mishra K.P, Ganju L, Sairam M, Banerjee PK, & Sawhney RC. 2008. A Review of High Throughput Technology for The Screening Of Natural Products. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 62: 94-98.
- Rahman F. 2015. Uji aktivitas ekstrak jamur endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap viabilitas khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida tropicalis* [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam: Institut Pertanian Bogor.
- Rempola B, Kaniak A, Rago JP, & Rytka J. 2001. Anaerobic Growth of *Saccharowyces Cerevisiae* Alleviates The Lethal Effect of Phosphotyrosyl Phosphatase Activators Depletion. *Acta Biochimica Polonica*. 48 (4): 1043-1049.

- Retnani V. 2011. Pengaruh suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *sprague dawley* yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Shahidi H. 2002. Cytotoxic Activity of Medicinal Plants Used in Iranian Traditional Medicine on Two Strains Of *Saccharomyces Cerevisiae*. *Daru*. 10 (4): 162-164.
- Suhendar U. 2015. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) asal Cianjur, Sukabumi, Garut dan Subang terhadap sel kanker payudara MCF7. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tan RX, & Zou WX. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep*. 18(4): 448-459.