

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) SEBAGAI INHIBITOR XANTIN
OKSIDASE DENGAN TEKNIK PCR**

Skripsi
**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**



Oleh:
Nur Azizah
1704015086



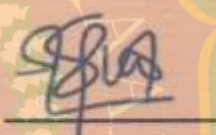


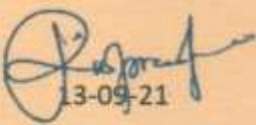


PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2021

Skripsi dengan Judul

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) SEBAGAI INHIBITOR XANTIN
OKSIDASE DENGAN TEKNIK PCR**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
NUR AZIZAH, NIM 1704015086

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> <u>Wakil Dekan I</u> Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>7/10/21</u>
<u>Penguji I</u> Drs. H. apt. Sediarmo, M.Farm.		<u>27-08-21</u>
<u>Penguji II</u> apt. Sofia Fatmawati, M.Farm.		<u>20-08-21</u>
<u>Pembimbing I</u> Dr. H. Priyo Wahyudi M.Si.		<u>7-09-21</u>
<u>Pembimbing II</u> Hanifah Rahmi, M. Biomed.	 <small>Skripsi 8/09-21</small>	<u>8-09-21</u>
Mengetahui:		
<u>Ketua Program Studi</u> Dr. apt. Rini Prastiwi, M.Si.	 <small>13-09-21</small>	<u>13-09-21</u>

Dinyatakan lulus pada tanggal: **14 Agustus 2021**

ABSTRAK
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) SEBAGAI INHIBITOR XANTIN
OKSIDASE DENGAN TEKNIK PCR

Nur Azizah
1704015086

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup berkoloni dalam organ tanaman dalam kurun waktu tertentu tanpa merugikan tanaman inangnya. Bakteri endofit memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Bakteri endofit daun binahong diketahui berkhasiat sebagai antihiperurisemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi molekular bakteri endofit yang memiliki potensial terbesar sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase pada daun binahong menggunakan teknik PCR. Hasil isolasi bakteri endofit didapat tiga isolat bakteri yaitu DBE1, DBE2, dan DBE3. Isolat bakteri DBE3 menunjukkan potensi penghambatan terbesar. Isolat yang memiliki potensi penghambatan terbesar selanjutnya diisolasi DNA genomiknya dan diamplifikasi dengan gen 16S rRNA menggunakan primer 63f dan 1387r. Hasil amplikon, selanjutnya dipurifikasi dan disekuensing. Hasil sekuensing dilakukan *alignment* sekuens DNA dengan data yang ada pada *Genbank* menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Isolat bakteri endofit DBE3 dari Daun Binahong berhasil diidentifikasi dan memiliki tingkat kemiripan 84,21% dengan bakteri *Bacillus subtilis strain* NCDO 1769.

Kata Kunci: Bakteri endofit, binahong, gen 16S rRNA, PCR.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadirat Allah subhanahu wata'ala karena berkat rahmah dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul **“ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) SEBAGAI INHIBITOR XANTIN OKSIDASE DENGAN TEKNIK PCR”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada program studi Farmasi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta.
2. Bapak/Ibu Wakil Dekan I, Wakil Dekan II, Wakil Dekan III, dan Ketua Program Studi Farmasi FFS UHAMKA Jakarta.
3. Bapak Dr. H. Priyo Wahyudi M.Si, selaku Pembimbing I dan Ibu Hanifah Rahmi, M. Biomed. selaku Pembimbing II yang senantiasa membantu dan memberikan bimbingan, arahan, nasihat, motivasi, serta berbagai dukungan yang sangat berarti selama pengerjaan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini. Terimakasih atas pengalaman dan kesabarannya dalam membantu penulis selama ini.
4. Bapak Fahjar Prisiska, M.Farm., Apt. selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya sejak awal perkuliahan hingga sampai akhir dari perkuliahan dan penyusunan skripsi ini.
5. Seluruh staf dosen yang telah memberikan ilmu dan masukan-masukan yang berguna selama kuliah dan selama penyelesaian skripsi ini.
6. Kedua orang tua saya baba Rizal dan mama Nazira, adik-adikku tercinta Nur Aalya dan Atiqa Rizal, atas do'a, kasih sayang, cinta, semangat dan dukungannya yang selalu diberikan kepada penulis sejak penulis dilahirkan hingga saat ini dan selamanya.
7. Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis sangat menyadari bahwa dalam melakukan penelitian serta penulisan skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna. Untuk itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik dari pembaca untuk membangun dan menyempurnakan skripsi ini.

Jakarta, 20 Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	4
2. Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	5
3. Sekuensing dan Identifikasi Molekuler	6
4. Elektroforesis	7
5. Isolasi DNA	8
6. Gen RNA ribosomal 16S (16S rRNA)	9
7. Bakteri Endofit dan Isolasi Bakteri Endofit	10
8. Enzim Xantin Oksidase	11
B. Kerangka Berfikir	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	13
A. Tempat dan Waktu Penelitian	13
1. Tempat Penelitian	13
2. Waktu Penelitian	13
B. Alat dan Bahan Penelitian	13
1. Alat Penelitian	13
2. Bahan Penelitian	13
C. Prosedur Penelitian	14
1. Determinasi Tanaman	14
2. Sterilisasi Alat	14
3. Pembuatan Medium	14
4. Penyiapan Larutan Pereaksi Uji	15
5. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Endofit.	15
6. Pengamatan Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Binahong secara Makroskopik dan Mikroskopik	16
7. Kultivasi Bakteri Endofit untuk Skrining Potensi	17
8. Skrining Potensi Penghambatan Xantin Oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Binahong	17
9. Isolasi DNA Genom Bakteri Endofit	17
10. Analisis DNA Genom Bakteri Endofit dengan Elektroforesis	18

11. Amplifikasi Gen 16S-rRNA dengan PCR	19
12. Analisis Amplikon dengan Elektroforesis	19
13. Sekuensing Gen 16S-rRNA	20
14. Analisis Hasil Sekuensing	21
D. Teknik Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Determinasi Tanaman	22
B. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Endofit Daun Binahong	22
C. Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Binahong secara Makroskopik dan Mikroskopik	23
D. Skrining Bakteri Endofit Daun Binahong untuk Skrining Potensi	24
E. Isolasi DNA	25
F. Analisis DNA dengan Elektroforesis	26
G. Amplifikasi Gen 16S-rRNA dengan PCR	27
H. Analisis Amplikon dengan Elektroforesis	28
I. Analisis Sekuensing	29
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	36
A. Simpulan	36
B. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Daun Binahong	4
Gambar 2. Reaksi Sintesis Asam Urat	11
Gambar 3. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Daun Binahong	22
Gambar 4. Hasil Pemurnian Bakteri Endofit Daun Binahong	23
Gambar 5. Hasil Pengamatan Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Binahong secara Mikroskopis dengan perbesaran 1000x	24
Gambar 6. Fragmen DNA Isolat Bakteri Endofit DBE3 Daun Binahong	27
Gambar 7. Fragmen Amplikon Isolat Bakteri Endofit DBE3 Daun Binahong	28
Gambar 8. Hasil Verifikasi Amplikon DNA Isolat Bakteri Endofit DBE3 Daun Binahong	29
Gambar 9. Elektroferogram Primer 63F DBE3 Daun Binahong	30
Gambar 10. Elektroferogram Primer 1387r DBE3 Daun Binahong	31
Gambar 11. Hasil Consensus Primer 63F dan 1387r Sampel Isolat Bakteri Endofit DBE3 Daun Binahong	32
Gambar 12. Deskripsi Hasil Nukleotida BLAST Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Endofit Daun Binahong	34
Gambar 13. Deskripsi Hasil Nukleotida BLAST Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Endofit Daun Binahong	34
Gambar 14. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri Endofit DBE3	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm
Lampiran 1.	Perhitungan Pembuatan Medium 41
Lampiran 2.	Penyiapan Larutan Pereaksi Uji Potensi Penghambatan Xantin Oksidase 43
Lampiran 3.	Pemetaan Larutan Uji untuk Preparasi pada Skrining Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase. 45
Lampiran 4.	Hasil Determinasi Daun Binahong 46
Lampiran 5.	Sertifikat Analisis FluoroVue™ Nucleic Acid Gel Stain 47
Lampiran 6.	Sertifikat Analisis NZYTaQ II 2X Green Master Mix 48
Lampiran 7.	Sertifikat Analisis Geno Plus™ Genomic DNA 49
Lampiran 8.	Sertifikat Analisis DNA Ladder 1Kb 50
Lampiran 9.	Sertifikat Analisis <i>Lysozyme</i> 51
Lampiran 10.	Sertifikat Analisis TAE Buffer 52
Lampiran 11.	Sertifikat Analisis <i>Loading Dye</i> 53
Lampiran 12.	Sertifikat Analisis Agarosa 54
Lampiran 13.	Sertifikat Analisis Substrat Xantin 55
Lampiran 14.	Sertifikat Analisis Enzim Xantin Oksidase 56
Lampiran 15.	Skema Isolasi Bakteri Endofit Daun Binahong 58
Lampiran 16.	Pengamatan Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Binahong secara Makroskopis dan Mikroskopis 59
Lampiran 17.	Skema Skrining Potensi Penghambatan Xantin Oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Binahong 60
Lampiran 18.	Supernatan Bakteri Endofit Daun Binahong Untuk Skrining Penghambatan Enzim Xantin Oksidase 61
Lampiran 19.	Hasil Skrining Potensi Penghambatan Xantin Oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Binahong 62
Lampiran 20.	Perhitungan persen Skrining Potensi Penghambatan Xantin Oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Binahong 63
Lampiran 21.	Perhitungan Bahan-Bahan untuk Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Daun Binahong 64
Lampiran 22.	Skema Kerja Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit DBE3 Daun Binahong 66
Lampiran 23.	Skema Isolasi DNA Genom Bakteri Endofit 67
Lampiran 24.	Skema Analisis DNA Genom Bakteri Endofit dengan Elektroforesis 68
Lampiran 25.	Skema Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan PCR 69
Lampiran 26.	Skema analisis amplicon dengan elektroforesis 70
Lampiran 27.	Alat dan Bahan 71
Lampiran 28.	Hasil Isolasi DNA Berupa DNA Isolat Bakteri Endofit DBE3 dan Hasil Amplifikasi Berupa Amplicon Isolat Bakteri Endofit DBE3 76

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Asam urat merupakan produk akhir dari degradasi purin yang bersumber dari dalam tubuh atau diet dan dianggap sebagai sampah yang harus dibuang (Priyanto, 2009). Pembentukan asam urat dikatalisis oleh enzim xantin oksidase yang merubah metabolisme purin dan hipoxantin menjadi xantin lalu akhirnya menjadi asam urat (Boroujerdi, 2015). Penghambatan xantin oksidase pada manusia dapat dilakukan dengan terapi antihiperurisemia untuk menurunkan kadar asam urat dengan menggunakan obat urikosurik atau obat yang bekerja menghambat xantin oksidase (Pacher *et al.* 2006). Obat pilihan yang dapat bekerja menghambat xantin oksidase saat ini ialah allopurinol dan metabolit utamanya oxipurinol (Priyanto, 2009). Allopurinol bekerja dengan menghambat biosintesis akhir dari asam urat (Morrow dan Roberts 2003). Selain dengan penggunaan allopurinol penghambatan xantin oksidase juga dapat dilakukan salah satunya dengan tanaman binahong.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman hias di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk berbagai macam penyakit. Bagian dari tanaman binahong yang sering dimanfaatkan sebagai obat ialah daunnya untuk membantu menurunkan kadar asam urat serta meringankan gejala rematik (BPOM, 2016). Lidinilla (2014) melaporkan ekstrak etanol 70% dari daun binahong dapat menurunkan kadar asam urat tikus putih yang diinduksi kafein dengan presentase sebesar 91,83% pada dosis 200 mg/kgBB. Ladeska dkk. (2019) melaporkan subfraksi etanol 70% daun binahong mempunyai aktivitas sebagai antihiperurisemia sebanding dengan allopurinol. Senyawa metabolit sekunder dari daun binahong antara lain flavonoid, steroid, triterpenoid, dan saponin (Surbakti dkk. 2018). Strobel and Daisy (2003) melaporkan bahwa dalam jaringan tanaman terdapat mikroba yang ikut berperan dalam proses pembentukan senyawa yang disebut dengan mikroba endofit.

Mikroba endofit adalah mikroorganisme yang hidup berkoloni di dalam organ tanaman dalam kurun waktu tertentu tanpa merugikan tanaman inangnya.

Mikroba endofit dapat diisolasi dari berbagai jenis tanaman mulai dari pohon berkayu, herba, rumput-rumputan, dan alga. Mengetahui endofit secara lebih spesifik diperlukan seleksi dan penapisan (*screening*) dalam proses pengisolasian (Kumala, 2014). Desriani dkk. (2014) melaporkan bahwa terdapat 37 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman binahong dan 15 isolat diantaranya menghasilkan senyawa aktif antibakteri. Fadhilah (2016) melaporkan bahwa terdapat 7 isolat bakteri endofit yang berbeda berhasil diisolasi dari tanaman binahong, yaitu 5 isolat bakteri gram positif dan 2 isolat bakteri gram negatif yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri. Berdasarkan penelitian Desriani dkk. (2014) dan Fadhilah (2016), perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri endofit daun binahong terhadap penghambatan enzim xantin oksidase.

Isolasi mikroba dilakukan untuk memilih mikroba yang paling tepat dalam menghasilkan senyawa yang diinginkan (Istianah dkk. 2018). Isolasi mikroba endofit dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu metode sterilisasi permukaan dan metode tanam langsung. Media yang digunakan untuk mikroba endofit berbeda-beda disesuaikan dengan jenis mikroba. Media *Nutrient Agar* (NA) adalah media yang digunakan untuk isolasi bakteri endofit dengan keadaan pH basa pada media pertumbuhan perlu diperhatikan agar bakteri endofit dapat tumbuh baik. Waktu yang diperlukan untuk isolasi bakteri endofit ialah 1 – 2 hari dan diinkubasi pada suhu 37 °C (Kumala, 2014). Pada proses isolasi perlu dilakukan identifikasi bakteri endofit untuk mengetahui jenis bakteri endofit penghambat xantin oksidase.

Identifikasi bakteri endofit penghambat enzim xantin oksidase dapat dilakukan secara molekular yaitu dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan metode *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) *sequencing*. *Sequencing* merupakan modifikasi amplifikasi DNA pada teknik PCR (Sogandi, 2018). Reaksi polimerase berantai atau dikenal sebagai PCR merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk mengamplifikasi nukleotida secara *in vitro* (Fatchiyah dkk. 2011). Analisis molekular menggunakan teknik PCR dilakukan dengan *sequencing* menggunakan gen pengkode 16S rRNA. Gen 16S rRNA digunakan sebagai sekuens karena gen ini terdapat pada hampir seluruh jenis bakteri dalam bentuk multigen atau operon. Proses selanjutnya setelah *sequencing*

yaitu dilakukan *alignment* sekuens menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (Kumala, 2014).

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi molekular bakteri endofit pada daun binahong. Penelitian diawali dengan mengisolasi bakteri endofit yang terdapat pada daun binahong untuk mendapatkan isolat murni. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode tanam langsung dengan medium NA. Isolat murni yang didapat, selanjutnya dilakukan skrining potensi bakteri endofit inhibitor xantin oksidase. Hasil isolat bakteri endofit yang paling potensial dilakukan isolasi DNA dan amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan teknik PCR. Selanjutnya amplicon disekuensing, hasil sekuensing dilakukan *alignment* sekuens DNA dengan data yang ada di *Genbank*.

B. Permasalahan Penelitian

Permasalahan pada penelitian ini ialah belum diketahuinya jenis isolat bakteri penghasil inhibitor xantin oksidase pada daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Identifikasi pada isolat bakteri endofit daun binahong yang memiliki potensial terbesar sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase perlu dilakukan. Teknik yang paling tepat dan akurat untuk identifikasi isolat daun binahong ini ialah teknik PCR. Menggunakan sekuens gen 16S rRNA yang kemudian hasilnya disekuensing lalu dilakukan *alignment* terhadap gen serupa yang dimiliki oleh *Genbank*. Hasil yang didapat berupa identitas isolat bakteri endofit daun binahong.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi molekular bakteri endofit yang memiliki potensial terbesar sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase pada daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menggunakan teknik PCR.

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan dapat ditindaklanjuti pengembangan kualitas bakteri melalui teknik rekayasa genetika sebagai upaya dalam meningkatkan kemampuan produksi senyawa bahan aktif yang berasal dari bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM RI. 2016. *Binahong Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Direktorat Obat Asli Indonesia. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 2-21.
- Bagus WI, Wirawan IGP, Adiartayasa IW. 2019. Analisis Homologi Fragmen DNA CVPD dari Jeruk Kinkit *Trophasia trifolia* Menggunakan BLAST Protein dan BLAST Nukleotida. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 8(4): 385.
- Boroujerdi M. 2015. *Pharmacokinetics and Toxicokinetics*. CRC Press. Boca Raton. Hlm. 162.
- Bushell C, Burns M. 2012. Feasibility Study into the Use of DNA Sequencing for the Identification of Probiotic Bacteria. *Journal of the Association of Public Analysts*. 40: 28-38.
- Clarridge JE. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17(4): 840-862.
- Desriani, P Safira UM, Bintang M, Rivai A, Lisdiyanti P. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(2): 89-93.
- Dinata DI. 2012. *Bioteknologi: Pemanfaatan Mikroorganisme dan Teknologi Bioproses*. EGC. Jakarta. Hlm. 91.
- Fadhilah. 2016. Isolasi dan Identifikasi Molekular Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka. Jakarta. Hlm. 37.
- Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widyanti S, Rahayu S. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 11-111.
- George J, Struthers AD. 2008. The Role of Urate and Xanthine Oxidase Inhibitors in Cardiovascular Disease. *Cardiovascular Therapeutics*. 26(1): 59-64.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Edisi I. PT Gramedia. Jakarta. Hlm. 55-104.
- Hagstorm A, Pinhassi J, Zweifel UL. 2000. Biogeographical Diversity Among Marine Bacterioplankton. *Quatic Microbial Ecology*. 21: 231-244.
- Istianah N, Wardani AK, Sriherfyna FH. 2018. *Teknologi Bioproses*. UB Press. Malang. Hlm. 12.
- Kasi PD, Ariandi, Tenriawaru EP. 2019. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Sagu dengan Gen 16S rRNA. *A Scientific Journal*. 36(1): 35-40.

- Kostic, DA, Dimitrijevic DS, Stojanovic GS, Palic IR, Dordevic AS, Ickovski JD. 2015. Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition. *Journal of Chemistry*. 2015(8): 1-5.
- Kumala S, Shanny F, Wahyudi P. 2006. Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (*Cassia fistula L.*). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 3(2): 97-102.
- Kumala S. 2014. *Mikroba Endofit Pemanfaatan Endofit dalam Bidang Farmasi*. Edisi I. ISFI. Jakarta. Hlm. 15-109.
- Kurniawan FB, Sahli IT. 2018. *Bakteriologi Praktikum Teknologi Laboratorium Medik*. EGC. Jakarta. Hlm. 13-17.
- Kurniawan A, Sari SP, Asriani E, Kurniawan A, Sambah AB, Prihanto AA. 2018. Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Selulolitik dari Mangrove Sungailiat dan Tukak Sadai di Pulau Bangka. *Jurnal Enggano*. 3(2): 13-17.
- Ladeska V, Pahriyani A, Gunawijaya MS. 2019. The Potency of Binahong Leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Subfraction with Ethanol 70% as an Antihyperuricemic Agent. *Proceedings of the 1st Muhammadiyah International Conference on Health and Pharmaceutical Development*. Hlm. 143–146.
- Laksmiawati DR, Simbolon R. 2017. Aktivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai Antihiperurisemia dan Antioksidan pada Tikus Hiperurisemia. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 9(1): 54.
- Leliqia NPE, Sukandar EY, Fidrianny I. 2017. Overview of Efficacy, Safety, and Phytochemical Study of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Pharmacologyonline*. 1: 124-131.
- Lidinilla NG. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dalam Darah Tikus Putih. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. Hlm. 50.
- Maftuchah, Winaya A, Zainudin A. 2014. *Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler*. Deepublish. Yogyakarta. Hlm. 77-78.
- Maksum I, Sriwidodo, Gaffar S, Hasan K, Subroto T, Soemitro S. 2017. *Teknik Biologi Molekular*. Alqaprint Jatinangor. Bogor. Hlm. 1-47.
- Manoi F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15(1): 3-6.
- Marks DB, Marks AD, Smith CM. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Penerjemah: Suryono J, Sadikin V, Manderia LI. EGC.

Jakarta. Hlm.112.

- Millar TM, Kanczler JM, Bodamyali T, Blake DR, Stevens CR. 2002. Xanthine Oxidase is a Peroxynitrite Synthase: Newly Identified Roles for a Very Old Enzyme. *Redox Report*. 7(2): 65-70
- Misnadiarly. 2007. Rematik : *Asam Urat-Hiperurisemia, Arthritis Gout*. Edisi 1. Pustaka Obor Populer. Jakarta. Hlm. 1-9.
- Marchesi JR, Takuichi S, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Wade WG. 1998. Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers That Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Journal Applied and Environmental Microbiology*. 64(2): 795-799.
- Morrow JD, Roberts II LJ. 2003. *Senyawa Analgesik-Antipiretik dan Antiradang serta Obat-Obat yang Digunakan dalam Penanganan Pirai*. Dalam: Hardman JG, Limbird LE, Gilman GA (Eds). *Goodman and Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Edisi 10. Penerjemah: Tim Ahli Bahasa ITB. EGC. Jakarta. Hlm. 700.
- Newell PD, Fricker AD, Roco CA, Chandransu P, Merkel SM. 2013. A Small-Group Activity Introducing the Use and Interpretation of BLAST. *Journal of Microbiology & Biology Education*. 14(2): 238-243.
- Nurhayati B, Darmawati S. 2017. *Biologi Sel dan Molekuler*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 142-235.
- Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C. 2006. Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century After the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews*. 8(1): 7.
- Priyanto. 2009. *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*. Leskonfi. Depok. Hlm. 109-115.
- Radji M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3): 113–126.
- Radji M. 2011. *Rekayasa Genetika Pengantar untuk Profesi Kesehatan*. Sagung Seto. Jakarta. Hlm. 27-77.
- Sambrook J, Russel DW. 2001. *Molecular Cloning A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Sogandi S. 2018. *Biologi Molekuler Identifikasi Bakteri secara Molekuler*. Universitas 17 Agustus 1945. Jakarta. Hlm. 19.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4): 492-494.
- Sumardjo D. 2008. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. EGC. Jakarta.

Hlm. 389

Sumartiningsih S. 2011. The Effect of Binahong to Hematoma. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 5(6): 743-745.

Surbakti PAA, Queljoe ED, Boddhi W. 2018. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pharmacology*. 7(3): 29

Susanti R, Fibriana F. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta. CV. Andi Offset. Hlm. 1-2.

