

IDENTIFIKASI ISOLAT MIKROBA ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) PENGHASIL INHIBITOR XANTIN OKSIDASE MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA DAN GEN ITS

Skripsi
Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi



Oleh:

NAUFAL RESTU FAUZI
1704015318

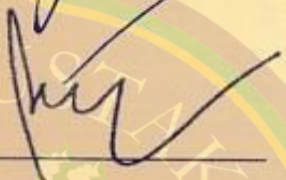
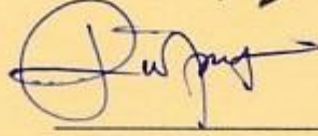


PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2021

Skripsi dengan Judul

IDENTIFIKASI ISOLAT MIKROBA ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) (Walp.) PENGHASIL INHIBITOR XANTIN OKSIDASE MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA DAN GEN ITS

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
NAUFAL RESTU FAUZI, NIM 1704015318

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> Wakil Dekan I Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>12/10/21</u>
<u>Penguji I</u> Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si.		<u>3 September 2021</u>
<u>Penguji II</u> Rindita, M.Si.		<u>9 September 2021</u>
<u>Pembimbing I</u> apt. Etin Diah Permanasari, Ph.D.		<u>23 September 2021</u>
<u>Pembimbing II</u> apt. Vera Ladeska, M.Farm.		<u>23 September 2021</u>
Mengetahui: <u>Ketua Program Studi</u> Dr. apt. Rini Prastiwi, M.Si.		<u>10-10-2021</u>

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

ABSTRAK

IDENTIFIKASI ISOLAT MIKROBA ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) PENGHASIL INHIBITOR XANTIN OKSIDASE MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA DAN GEN ITS

NAUFAL RESTU FAUZI
1704015318

Mikroba Endofit merupakan mikroorganisme hidup di dalam tanaman inang yang terdiri dari bakteri, kapang, khamir yang dapat menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder dan dapat dikembangkan sebagai sumber bahan obat. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa bakteri dan kapang endofit memiliki aktivitas inhibitor xantin oksidase. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi spesies bakteri dan kapang endofit daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase dengan menggunakan Gen 16S rRNA pada bakteri dan Gen ITS pada kapang. Hasil isolasi DNA pada bakteri dan kapang endofit daun salam menghasilkan pita DNA di atas 10.000 bp dengan menggunakan kit dari Viogene. Isolat DNA Bakteri dengan kode BDS1 diamplifikasi menggunakan gen 16S rRNA dengan primer 63F dan 1387r. Isolat kapang dengan kode KDS1 diamplifikasi menggunakan gen ITS dengan primer ITS5 dan ITS4. Amplifikasi pada bakteri dan kapang menghasilkan pita DNA sebesar 1500bp dan 600bp. Pada penelitian ini, isolat bakteri dengan kode BDS1 berhasil diidentifikasi secara molekuler dengan memiliki kemiripan terhadap *Bacillus aerius strain* 24K sebesar 97,65%. Isolat kapang dengan kode KDS1 memiliki kemiripan dengan *Colletotrichum asianum* ICMP 18580 sebesar 99,47%.

Kata Kunci: Mikroba Endofit, Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) Bakteri, Kapang, Gen 16S rRNA, Gen ITS

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur ke hadirat Allah subhanahu wata'ala karena berkat rahmah dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul “**IDENTIFIKASI ISOLAT MIKROBA ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.). PENGHASIL INHIBITOR XANTIN OKSIDASE MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA DAN GEN ITS**”.

Penulisan skripsi ini bertujuan 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. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. 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. Ibu apt. Etin Diah Permanasari, P.hD, selaku Pembimbing I dan Ibu apt. Vera Ladeska, M.Farm. 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. Terima kasih atas pengalaman dan kesabarannya dalam membantu penulis selama ini.
4. Seluruh staf dosen yang telah memberikan ilmu dan masukan-masukan yang berguna selama kuliah dan selama penyelesaian skripsi ini.
5. Kepada Kakek dan Nenek saya Mbahkang Suparlan dan Mbah Putri yang tak henti-hentinya memberikan dukungan semangat dan mengirimkan doa kepada saya hingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
6. Kedua orang tua saya bapak Fauzisyah dan Ibu Rizki, saudaraku tercinta Daffa Rizqi Fauzi, Althaf Rizki Fauzi, dan Afirah Rizki Fauzi, 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 yang terkasih Revi Yenita yang telah membantu, menemani dan memberi saya semangat dalam pengerjaan skripsi ini.
8. Terima kasih kepada teman kelompok dan 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 memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan dan kemampuan menulis dari penulis. Saran dan kritik dari pembaca untuk membangun dan menyempurnakan skripsi ini.

Jakarta, 9 Juli 2021
Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm.
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
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 Salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.)	4
2. Mikroba Endofit	5
3. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	5
4. Gen RNA ribosomal 16S (16S rRNA)	6
5. Gen <i>Internal Transcribed Spacer</i> (ITS)	7
6. Elektroforesis	7
7. Isolasi DNA	8
8. Sekuensing DNA dan Identifikasi Molekuler	9
B. Kerangka Berfikir	10
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
A. Tempat dan Jadwal Penelitian	11
1. Tempat Penelitian	11
2. Waktu Penelitian	11
B. Alat dan Bahan Penelitian	11
1. Alat Penelitian	11
2. Bahan Penelitian	11
C. Prosedur Penelitian	12
1. Sterilisasi Alat	12
2. Pembuatan Medium	12
3. Penyiapan Larutan Pereaksi Uji	13
4. Isolasi dan Pemurnian Mikroba Endofit Daun Salam	14
5. Kultivasi Mikroba Endofit Untuk Skrining Potensi	15
6. Skrining Potensi Mikroba Endofit Daun Salam	16
7. Karakterisasi Morfologi Mikroba Endofit Daun Salam Secara Makroskopik dan Mikroskopik	18
9. Analisis DNA Genom Mikroba Endofit Dengan Elektroforesis.	19
10. Amplifikasi Gen 16S rRNA dan Gen ITS	20
11. Analisis Amplikon Dengan Elektroforesis	20
12. Sekuensing Gen 16S-rRNA dan Gen ITS	21

	Hlm.
13. Analisis Hasil Sekuensing	21
D. Teknik Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Hasil Isolasi dan Pemurnian Mikroba Endofit Daun Salam	22
a. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Endofit Daun Salam	22
b. Isolasi dan Pemurnian Kapang Endofit Daun Salam	23
B. Hasil Skrining Potensi Mikroba Endofit Daun Salam	25
C. Hasil Karakterisasi Morfologi Mikroba Endofit Daun Salam Secara Makroskopik dan Mikroskopik	26
D. Isolasi DNA Genom Mikroba Endofit.	27
a. Isolasi DNA Bakteri	27
b. Isolasi DNA Kapang	29
E. Analisis DNA Genom Mikroba Endofit Dengan Elektroforesis.	30
F. Amplifikasi Gen 16S rRNA dan Gen ITS	32
G. Analisis Amplikon dengan elektroforesis	33
H. Analisis Hasil Sekuensing	35
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	41
A. Simpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

	Hlm.
Tabel 1. Komposisi Larutan Uji pada Skrining Potensi penghambatan Xantin Oksidase Metabolit Sekunder Mikroba Endofit Daun Salam	16
Tabel 2. Hasil Skrining Potensi Bakteri Endofit Daun Salam	25
Tabel 3. Hasil Skrining Potensi Kapang Endofit Daun Salam	25
Tabel 4. Hasil Pengamatan Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Salam Secara Makroskopik	26
Tabel 5. Hasil Pengamatan Karakterisasi Morfologi Kapang Endofit Daun Salam Secara Makroskopik	27



DAFTAR GAMBAR

	Hlm.
Gambar 1. Daun Salam (Sumber : Koleksi Pribadi)	4
Gambar 2. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Daun Salam	22
Gambar 3. Hasil Pemurnian Bakteri Endofit Daun Salam	23
Gambar 4. Hasil Isolasi Kapang Endofit Daun Salam	24
Gambar 5. Hasil Pemurnian Kapang Endofit Daun Salam	24
Gambar 6. Hasil Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Salam BDS1 Secara Mikroskopik pada Perbesaran 400 kali	26
Gambar 7. Hasil Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Salam KDS1 Secara Mikroskopik pada Perbesaran 40 kali	27
Gambar 8. Fragmen DNA <i>Genomic</i> Isolat Mikroba Endofit dari Daun Salam	31
Gambar 9. Fragmen Amplikon Mikroba Endofit dari Daun Salam	34
Gambar 10. Hasil Verifikasi Amplikon DNA Mikroba Endofit Daun Salam	35
Gambar 11. Deskripsi Hasil nukleotida Blast Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Endofit BDS1 dari Daun Salam	36
Gambar 12. Deskripsi Hasil nukleotida Blast Gen ITS Isolat Kapang Endofit KDS1 dari Daun Salam	37
Gambar 13. Hasil Graphic Summary Blast Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Endofit BDS1 dari Daun Salam	38
Gambar 14. Hasil Graphic Summary Blast Gen ITS Isolat Kapang Endofit KDS1 dari Daun Salam	39
Gambar 15. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri Endofit BDS1 dari Daun Salam	40
Gambar 16. Pohon Filogenetik Isolat Kapang Endofit KDS1 dari Daun Salam	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm.
Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Daun Salam 45
Lampiran 2.	Sertifikat Analisis Geno <i>Plus</i> TM Genomic DNA Extraction Miniprep System 46
Lampiran 3.	Sertifikat Analisis Plant <i>Genomic</i> DNA Extraction Miniprep System 47
Lampiran 4.	Sertifikat Analisis <i>Lysozyme</i> 48
Lampiran 5.	Sertifikat Analisis Agarose 49
Lampiran 6.	Sertifikat Analisis TAE Buffer 10X 50
Lampiran 7.	Sertifikat Analisis <i>FloroVue Nucleic Acid Stain Gel</i> 51
Lampiran 8.	Sertifikat Analisis <i>Loading Dye</i> 6x 52
Lampiran 9.	Sertifikat Analisis DNA <i>Ladder</i> 1Kb 53
Lampiran 10.	Sertifikat Analisis <i>NZYTaq II 2X Green Master Mix</i> 54
Lampiran 11.	Skema Kerja Keseluruhan 55
Lampiran 12.	Skema Kerja Isolasi dan Pemurnian Mikroba Endofit Daun Salam 56
Lampiran 13.	Skema Kerja Karakterisasi Makroskopik dan Mikroskopik Bakteri Endofit Daun Salam 57
Lampiran 14.	Skema Kerja Karakterisasi Makroskopik dan Mikroskopik Kapang Endofit Daun Salam 58
Lampiran 15.	Skema Kerja Skrining Potensi Aktivitas Penghambatan Enzim Xantin oksidase Metabolit Sekunder Mikroba Endofit Daun Salam 59
Lampiran 16.	Skema Kerja Isolasi DNA Bakteri 60
Lampiran 17.	Skema Kerja Isolasi DNA Kapang 61
Lampiran 18.	Skema Kerja Analisis DNA Genom Mikroba Endofit dengan elektroforesis 62
Lampiran 19.	Amplifikasi Gen 16S rRNA 63
Lampiran 20.	Amplifikasi Gen ITS 64
Lampiran 21.	Analisis Amplikon dengan elektroforesis 65
Lampiran 22.	Komposisi dan Perhitungan Pembuatan Medium 66
Lampiran 23.	Penyiapan Larutan Fosfat 50 mM pH 7,5 Substrat Xantin 0,15 mM dan Enzim Xantin Oksidase 0,1 Unit/ml 69
Lampiran 24.	Hasil Skrining Potensi Penghambatan Xantin oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Salam 71

		Hlm.
Lampiran 25.	Perhitungan persen Skrining Potensi Penghambatan xantin oksidase Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Daun Salam	72
Lampiran 26.	Hasil Skrining Potensi Penghambatan Xantin oksidase Metabolit Sekunder Kapang Endofit Daun Salam	73
Lampiran 27.	Perhitungan persen Skrining Potensi Penghambatan xantin oksidase Metabolit Sekunder Kapang Endofit Daun Salam	74
Lampiran 28.	Perhitungan Bahan-bahan untuk Identifikasi Molekuler Mikroba Endofit Daun Salam	75
Lampiran 29.	Hasil Isolasi DNA dan Amplikon Mikroba Endofit Daun Salam	78
Lampiran 30.	Elektroferogram Hasil Sekuensing Gen 16S rRNA Bakteri Endofit Daun Salam	79
Lampiran 31.	Hasil <i>Consensus</i> Primer 63F dan 1387r Bakteri Endofit dari Daun Salam	81
Lampiran 32.	Elektroferogram Hasil Sekuensing Gen ITS Kapang Endofit Daun Salam	82
Lampiran 33.	Hasil <i>Consensus</i> Primer ITS5 dan ITS4 Kapang Endofit dari Daun Salam	84
Lampiran 34.	Alat dan Bahan	85

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Asam urat adalah produk akhir dari katabolisme adenin dan guanin yang dihasilkan dari pemecahan nukleotida purin (Nasrul dkk., 2012). Keberadaaan dari asam urat bisa dikatakan normal karena merupakan hasil produksi oleh tubuh. Kadar asam urat bisa meningkat apabila seseorang banyak mengonsumsi makanan yang mengandung purin tinggi (Misnadiarly, 2014). Keadaan peningkatan kadar asam urat di dalam tubuh dikenal dengan Hiperurisemia. Hiperurisemia dapat terbentuk melalui oksidasi hipoxantin dan xantin yang dikatalis oleh xantin oksidase (Nur Amanila, 2010). Salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antihiperurisemia dengan menurunkan kadar asam urat dalam tubuh yaitu daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.).

Tanaman daun salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, fenolik dan triterpenoid (Hariandja dkk., 2015). Salah satu kandungan yang terdapat pada daun salam, yaitu flavonoid dengan flavonoid total sebesar tidak kurang dari 0,40% dihitung sebagai kuersetin (Depkes, 2008). Flavonoid memiliki potensi aktivitas sebagai inhibitor xantin oksidase dengan mengikat sisi aktif dari xantin oksidase (Lin *et al.*, 2002). Senyawa flavonoid bekerja sebagai inhibitor xantin oksidase dengan cara meniru kerangka struktur xantin untuk aktivitas penghambatan yang kuat pada xantin oksidase (Lin *et al.*, 2015). Selain dapat disintesis dari tumbuhan dan hewan, senyawa-senyawa aktif tersebut dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, salah satunya mikroba endofit (Kumala, 2014).

Endofit adalah mikroorganisme hidup di dalam tanaman inang terdiri dari bakteri, kapang, khamir yang dapat diisolasi dari semua jaringan tanaman (Kumala, 2014). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari mikroba endofit seperti tanaman inang terjadi karena adanya transfer genetik dari tanaman inang. Mikroba endofit juga menerima nutrisi dari tanaman inang serta dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman inang (Maheswari, 2017). Dari beberapa hasil penelitian diketahui bahwa bakteri endofit telah diidentifikasi dan dikarakterisasi menjadi sejumlah senyawa yang berkhasiat. Sedangkan, kapang

endofit yang berkolonisasi di jaringan tanaman dapat dilihat secara mikroskopik dan dapat juga diisolasi pada biakan murni (Kumala, 2014). Identifikasi bakteri dan kapang endofit dapat dilakukan dengan teknik biologi molekular.

Identifikasi biologi molekular yang dilakukan adalah identifikasi dengan menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Identifikasi yang dilakukan untuk bakteri endofit adalah menggunakan gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA adalah gen universal yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri (Clarridge, 2004). 16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler karena molekul ini bersifat ubikuitus dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme (Pangastuti, 2006). Selain, gen 16S rRNA, terdapat gen yang digunakan untuk mengidentifikasi mikroba lain yaitu gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Gen yang digunakan untuk mengidentifikasi jamur adalah gen ITS (Iwen *et al.*, 2002).

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai identifikasi isolat mikroba endofit daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase dengan menggunakan gen 16S rRNA dan gen ITS. Identifikasi bakteri endofit dengan gen 16S rRNA sudah pernah dilakukan pada tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Pada penelitian tersebut didapatkan isolat bakteri endofit yang diperoleh termasuk genus *Bacillus* (Mursadam dkk., 2017). Identifikasi kapang endofit dengan menggunakan gen ITS sudah pernah dilakukan penelitian pada tanaman daun cabai (*Capsicum annum* L). Hasil dari identifikasi menggunakan gen ITS tersebut didapatkan jamur endofit yang tergolong dalam filum *Ascomycota*, kelas *Dothideomycetes*, *Leotiomycetes* dan *Sordariomycetes* (Legiastuti dkk., 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka akan dilakukan identifikasi isolat mikroba endofit daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tahap identifikasi pertama kali dilakukan dengan cara mengkultur mikroba hasil isolasi daun salam dengan medium NB dan PDB. Isolat yang diidentifikasi merupakan isolat yang memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap xantin oksidase. Tahapan tersebut mencakup isolasi DNA, amplifikasi gen menggunakan PCR yang dianalisis dengan elektroforesis, lalu dilanjutkan dengan proses sekuensing. Setelah melalui proses sekuensing, maka hasil analisis dilakukan penyejajaran antara sekuens sampel dengan sekuens yang

terdapat pada *database*. Sehingga akan diketahui kekerabatan antara spesies isolat bakteri dan jamur dari pohon filogenetik.

B. Permasalahan Penelitian

Jenis mikroba endofit yang terdapat pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) sebagai penghasil inhibitor xantin oksidase belum diketahui. Identifikasi mikroba endofit daun salam yang memiliki nilai penghambatan terbesar perlu dilakukan. Teknik identifikasi dapat dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan bantuan Gen 16S rRNA dan Gen ITS.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui spesies bakteri dan jamur endofit pada isolat bakteri dan jamur endofit daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) sebagai penghasil senyawa inhibitor xantin oksidase menggunakan Gen 16S rRNA dan Gen ITS.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari Penelitian ini yaitu memberikan sumber informasi tentang keanekaragaman spesies bakteri dan jamur endofit pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang dapat menghasilkan senyawa Inhibitor Xantin oksidase sebagai sumber pengembangan bahan obat untuk anti hiperurisemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Bio-Rad. 2017. *Horizontal Electrophoresis Protocol*. Bio-Rad Laboratories. United States of America. Hlm. 1.
- Buwono, Kurniawati N, Iqbal M. 2016. Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*. 7(1): 54–65.
- Chun ML, Chen CS, Chen CT, Liang YC, Lin J. 2002. Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Annales de Pathologie*. (HS1): 167–172.
- 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.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi I. Jakarta. Hlm.119.
- Dianati NA. 2010. Gout and hyperuricemia. *Comprehensive Therapy*. 3(4): 3–13
- Dinata DI. 2009. Bioteknologi Pemanfaatan Mikroorganisme dan Teknologi Bioproses. EGC. Jakarta. Hlm. 91.
- Dwita D. 2016. Pengaruh Pemberian Air Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat. *Jurnal Ipteks Terapan*. 10(2): 117.
- Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widyarti S, Rahayu S. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 8-115.
- Ikhwan HA, Arizal FR, Mukhlisoh SS. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Journal Chemistry Science*. 7(1): 1–4.
- Iwen PC, Hinrichs SH, Rupp ME. 2002. Utilization of the internal transcribed spacer regions as molecular targets to detect and identify human fungal pathogens. *Medical Mycology*. 40(1): 88–89.
- Jollès P. 1984. Review: What's new in lysozyme research? *Molecular and Cellular Biochemistry*. 63(2): 165–189.
- Joshi M, Deshpande JD. 2010. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. *International Journal of Biomedical Research*. 2(1): 81-97.
- Kumala S. 2014. *Mikroba Endofit Pemanfaatan Endofit dalam Bidang Farmasi*.

- Edisi I. ISFI. Jakarta. Hlm. 15-109.
- Legiastuti TS, Aminingsih T. 2012. Identifikasi Cendawan Endofit Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 2(8): 31–36.
- Lin S, Zhang G, Liao Y, Pan J, Gong D. 2015. Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure-Affinity and Structure-Activity Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 35(63): 1.
- Maftuchah, Winaya A, Zainudin A. 2014. *Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler*. Deepublish. Yogyakarta. Hlm. 77.
- Maheshwari DK. 2017. *Endophytes: Biology and Biotechnology*. Springer. Hlm. 2-9.
- Maksum I, Sriwidodo, Gaffar S, Hasan K, Subroto T., Soemitro S. 2017. *Teknik Biologi Molekular*. Alqaprint Jatinangor. Bogor. Hlm. 1-47
- Misnadiarly. 2014. *REMATIK: Asam Urat-Hiperurisemia*. Pustaka Obor Populer. Jakarta. Hlm. 9.
- Muhammad IR, Hariandja EM. 2015. Review : Aktivitas Farmakologis , Senyawa Aktif , dan Mekanisme Kerja Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik*.
- Mursadam, Wildan, Ramdani A. 2017. Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Kemampuannya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*. 02(03): 58.
- Nasrul E, Sofitri S. (2012). Hiperurisemia pada Pra Diabetes. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 1(2): 86–91.
- Nurhayati B, Darmawati S. 2017. *Biologi Sel dan Molekuler*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 139-235.
- Op De Beeck, Lievens B, Busschaert P, Colpaert JV. 2014. Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies. *PLoS ONE*. 9(6): 1-11.
- Pangastuti A. 2006. Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16s rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Biodiversitas*. 7(3): 292–296.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta. Hlm. 150-170.
- Purnamasari MI, Prihatna C, Gunawan AW, Suwanto A. 2012. Isolasi dan Identifikasi secara Molekuler *Ganoderma* spp. yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Pangkal Batang di Kepala Sawit. *Jurnal Fitopatologi*

Indonesia. 8(1): 9-15.

Rahayu DA, Nugroho ED. 2015. *Biologi Molekuler dalam Perspektif Konservasi*. Plantaxia. Yogyakarta. Hlm. 40, 65, 80-81, 87-88, 100-101.

Rinanda T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 11(3): 172-177.

Shahid M, Srivastava M, Kumar V, Singh A, Sharma A, Pandey S, Rastogi S, Pathak N, Srivastava AK. 2014. Phylogenetic Diversity Analysis of Trichoderma Species Based on Internal Transcribed Spacer (ITS) Marker. *African Journal of Biotechnology*. 13(3): 450.

Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ. 1998. Molecular Systemics of Plants II: DNA Sequencing. *Kluwer Academic Publisher. Massachusetts*. Hlm.17-28.

Triani N. 2020. Isolasi Dna Tanaman Jeruk Dengan Menggunakan Metode Ctab (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *Jurnal Teknologi Terapan: G-Tech*. 3(2): 221–226.

USDA. 2020. *Clasification of Syzygium polianthum*. National Agricultural Library. USA. Hlm. 1

Widowati T, Bustanussalam, Harmastini S, Partomuan S. 2016. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Sebagai Penghasil Antioksidan. *Biopropal Industri*. 7(1):9-16.

Yuwono T. 2005. *Biologi Molekular*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 35-77.