

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Yeast* Antagonis pada Saluran Pencernaan Nyamuk Berdasarkan Sekuen rDNA

SKRIPSI



**Gan Edytia Noer Cahyani
31130026**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2017**

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Yeast* Antagonis pada Saluran Pencernaan Nyamuk Berdasarkan Sekuen rDNA

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana



Gan Edytia Noer Cahyani
31130026

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2017

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Gan Edytia Noer Cahyani

NIM : 31130026

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Yeast* Antagonis pada Saluran Pencernaan Nyamuk Berdasarkan Sekuen rDNA

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 23 Oktober 2017



Gan Edytia Noer Cahyani

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

**“ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER *YEAST* ANTAGONIS PADA SALURAN
PENCERNAAN NYAMUK BERDASARKAN SEKUEN rDNA”**
telah diajukan dan dipertahankan oleh:

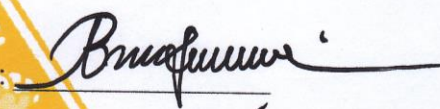
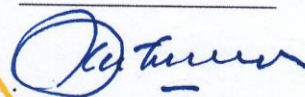
GAN EDYTIA NOER CAHYANI
31130026

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 23 Oktober 2017

Nama Dosen

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
(Dosen Pembimbing I/Dosen Penguji)
2. Dr. Guntoro
(Dosen Pembimbing II/Dosen Penguji)
3. Dr. Budi Setyadi Daryono, M.Agr.Sc.
(Dosen Penguji/Ketua Tim Penguji)

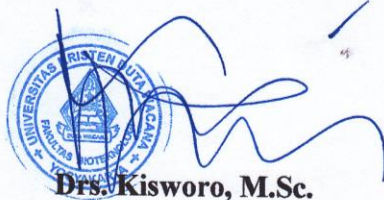
Tanda Tangan



Yogyakarta, 23 Oktober 2017

Disahkan oleh:

Dekan


Drs. Kisworo, M.Sc.

DUTA WACANA

Ketua Program Studi


Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat, rahmat dan kasih karuniaNya sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Yeast* Antagonis pada Saluran Pencernaan Nyamuk Berdasarkan Sekuen rDNA**. Penelitian hingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, bantuan serta motivasi dari berbagai pihak hingga selesaikannya skripsi ini. Untuk itu pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. sebagai Dosen Pembimbing I atas bimbingan, nasehat serta waktunya selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Dr. Guntoro, sebagai Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
3. Dr. Budi Setyadi Daryono, M.Agr.Sc. sebagai Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan dan bimbingan untuk menyelesaikan skripsi.
4. Drs. Kisworo, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi dan seluruh Dosen Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membimbing dan membagi ilmu dan pengalaman yang sangat berharga.
5. Staff Administrasi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
6. Laboran Fakultas Bioteknologi, terimakasih untuk bantuan, waktu, dan bimbingan selama penelitian di Lab.
7. Orang tua dan keluarga yang tidak pernah lelah dalam mendidik, memberi kasih sayang, semangat dan dorongan untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Scranton Women Scholarship Center yang telah memberikan bantuan beasiswa.
9. Teman-teman seperjuangan, Pandawa dan teman-teman Biotek 2013 terima kasih telah menemani selama proses skripsi, memberi nasehat, motivasi dan selalu memberikan semangat.

Semoga melalui tulisan ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan kemajuan pendidikan serta ilmu pengetahuan. Harapannya penelitian ini dapat dikembangkan dan dilanjutkan oleh adik-adik di Fakultas Bioteknologi UKDW.

Yogyakarta, 23 Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
Isolasi dan Identifikasi <i>Yeast</i> Antagonis dari Saluran Pencernaan Nyamuk Berdasarkan Data Sekuen Daerah ITS rDNA	
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1. Latar Belakang.....	1
2. Tujuan.....	1
3. Rumusan Masalah.....	1
4. Manfaat Penelitian.....	1
BAB II STUDI PUSTAKA.....	2
1. <i>Yeast</i>	2
1.1 Ciri-ciri umum <i>yeast</i>	2
1.2 Ekologi <i>yeast</i>	2
2. Nyamuk.....	2
3. <i>Yeast</i> Antagonis.....	3
4. Identifikasi <i>Yeast</i>	4
5. Analisis Sekuens Daerah ITS <i>Yeast</i>	5
BAB III METODE PENELITIAN.....	6
1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	6
2. Sampel.....	6
3. Alat Penelitian.....	6
4. Bahan Penelitian.....	6
5. Tahap Isolasi <i>Yeast</i>	6
6. Tahap Uji Aktivitas Antagonis <i>Yeast</i>	6
7. Tahap Identifikasi <i>Yeast</i>	7
7.1 Isolasi total DNA <i>yeast</i>	7
7.2 Isolasi DNA linier plasmid <i>yeast</i>	7
7.3 Identifikasi molekuler.....	8
7.4 Analisa filogenetik.....	8
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	9
1. Isolasi dan Identifikasi Morfologi <i>Yeast</i>	9
2. Uji Aktivitas Antagonisme.....	10
3. Identifikasi Molekuler.....	11
4. Analisa Filogenetik.....	13
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	21
1. Kesimpulan.....	21
2. Saran.....	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22
LAMPIRAN.....	26

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Segmen DNA Ribosom (rDNA)	4
Gambar 2. Isolasi <i>yeast</i> A (NY24), B (NY25), C (NY26), D (NY27), E (NY38) di medium YEPD..	9
Gambar 3. Hasil pengujian zona hambat (A) dengan metode <i>eclipse assay</i> NY24 dan (B) dengan metode <i>pour plate</i> NY38.....	11
Gambar 4. Identifikasi mikroskopik isolat A (NY24) dan B (NY38) perbesaran 10x100	11
Gambar 5. Hasil elektroforesis isolasi total DNA dan DNA linier plasmid	12
Gambar 6. Hasil elektroforesis produk PCR NY24 dan NY38	13
Gambar 7. Hubungan filogenetik Isolat NY24 dengan 44 sekuen <i>yeast</i> hasil BLAST sekuen metode <i>maximum likelihood</i> dan nilai <i>bootstrap</i> 1000x replikasi.....	14
Gambar 8. Hubungan filogenetik Isolat NY38 dengan 53 sekuen <i>yeast</i> hasil BLAST sekuen metode <i>maximum likelihood</i> dan nilai <i>bootstrap</i> 1000x replikasi.....	15
Gambar 9. Hubungan filogenetik Isolat NY24 dan NY38 dengan 45 sekuen <i>yeast</i> hasil BLAST dengan metode <i>maximum likelihood</i> dan nilai <i>bootstrap</i> 1000x replikasi	16

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	26
Lampiran 2. Langkah kerja	28
Lampiran 3. Gambar proses penelitian	34
Lampiran 4. Hasil sekuensing	39

©UKDW

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER *YEAST* ANTAGONIS PADA SALURAN PENCERNAAN NYAMUK BERDASARKAN SEKUEN rDNA

GAN EDYTIA NOER CAHYANI
31130026

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak

Yeast antagonis adalah *yeast* yang mampu menghambat pertumbuhan organisme lain, dan telah dilaporkan *yeast* ini secara alami dapat ditemukan pada berbagai habitat. Salah satu habitat *yeast* adalah saluran pencernaan serangga. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi *yeast* yang berpotensi sebagai *yeast* antagonis dari saluran pencernaan nyamuk. Proses isolasi dilakukan dengan mengidentifikasi *yeast* secara morfologi dan molekuler. *Yeast* diuji aktivitas antagonisme dengan menggunakan strain sensitif *Saccharomyces cerevisiae* CEN-PK2-1C. Dua isolat diduga berpotensi sebagai *yeast* antagonis diidentifikasi secara molekuler dengan menggunakan daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dari ribosomal DNA (rDNA) sebagai gen penanda. Hasil analisis hubungan filogenetik menunjukkan isolat NY24 memiliki tingkat homologi paling tinggi dengan kelompok *Microstromatales* sp, *Jaminalia* sp, dan *Quambalaria* sp. Sedangkan isolat NY38 memiliki tingkat homologi paling tinggi dengan kelompok *Candida* sp, *C. tropicalis*, *S. cerevisiae*, yang merupakan kelompok *killer yeast* kromosomal (kelompok *killer yeast* non-VLE) dan berbeda klaster dengan kelompok *killer yeast* VLE, *Pichia* sp, *Meyerozyma*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, dan *Kluyveromyces lactis*.

Kata Kunci: *Yeast* antagonis, nyamuk, *Internal Transcribed Spacer* (ITS), *Microstromatales* sp, *Candida* sp

ISOLATION AND MOLECULAR IDENTIFICATION of ANTAGONISTIC YEAST from MOSQUITO'S GUT BASED ON rDNA SEQUENCE

GAN EDYTIA NOER CAHYANI
31130026

Dept. of Biology, Faculty of Biotechnology

Duta Wacana Christian University, Yogyakarta

Abstract

Antagonistic yeast is a yeast that produce proteins that inhibit the growth of other organisms, especially the sensitive strain. It has been reported that these yeasts could be found in a various habitats, including the digestive tract of insect. The purpose of this study was to isolate potential antagonistic yeast(s) from the mosquito's digestive tract. The process was done by dissecting the gut of house mosqoutioes and grown the yeast isolates on YPD media. Yeasts were then morphologically examined and checked for its antagonistic activity against a sensitive yeast strain, *Saccharomyces cerevisiae* CEN-PK2-1C. Two isolates with highest antagonistic activity were then picked, continue with molecular identification. After being isolated, the DNA were then sequenced by using the Internal Transcribed Spacer (ITS) area of 5.8 ribosomal DNA (rDNA) as the genetic marker. Based on the molecular analysis done and the resulting phylogenetic tree, isolate NY24 shows very high homology with *Microstromatales* sp and *Jaminaea* sp. The other isolate, NY38, shows the highest homology and located at the same clade with *Candida* sp, *C. tropicalis* and *S. cerevisiae*, which are known as chromosomal killer yeast (non-VLE killer yeast group). The resulting phylogenetic tree also clearly shows the separation of non-VLE and VLE-based killer yeast, such as *Pichia* sp, *Meyerozyma* sp, *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, and *Kluyveromyces lactis*.

Keywords: antagonistic yeast, mosquito, Internal Transcribed Spacer (ITS), *Microstromatales* sp, *Candida* sp

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan biodiversitas yang besar, salah satunya adalah kelompok khamir. Khamir atau *yeast* adalah mikroorganisme eukariotik bersel tunggal yang termasuk dalam kingdom fungi. *Yeast* memiliki peran penting dalam bidang bioteknologi, pangan dan pakan. Beberapa hasil dari aplikasi penggunaan *yeast* adalah sebagai agen fermentasi makanan dan produksi biofuel. *Yeast* memiliki potensi untuk digunakan sebagai pengendali hayati karena mudah diperbanyak dan memiliki karakter yang dapat dimanipulasi.

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya pada bidang bioteknologi, saat ini telah ditemukan kelompok *yeast* yang disebut *yeast* antagonis. *Yeast* antagonis adalah *yeast* yang mampu menghambat pertumbuhan organisme lain, dan telah dilaporkan *yeast* ini secara alami dapat ditemukan pada berbagai habitat. Di alam *yeast* dapat ditemukan di tanah, buah, sayuran, serangga bahkan ditemukan dalam makanan fermentasi. Habitat yang beragam membuktikan bahwa *yeast* mampu tumbuh dalam lingkungan yang ekstrim dan memiliki daya saing terhadap mikroorganisme lain.

Saluran pencernaan serangga merupakan salah satu sumber keanekaragaman mikroorganisme yang belum banyak diteliti. Penelitian mengenai *yeast* yang berasal dari saluran pencernaan nyamuk juga masih sedikit dan belum banyak dilakukan. Menurut Valzano *et al* (2016), *yeast* dapat ditemukan pada tubuh serangga khususnya pada saluran pencernaan nyamuk. Beberapa *yeast* merupakan kelompok *yeast* antagonis yang mampu memproduksi *killer toxin* yang mampu merusak dinding sel nyamuk sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biokontrol nyamuk atau secara tidak langsung menekan populasi nyamuk. Hal ini sangat menarik karena nyamuk merupakan vektor penyakit mematikan seperti malaria, demam berdarah, radang otak encephalitis, filariasis, dan chikungunya.

Yeast yang diisolasi dari tubuh nyamuk dan diseleksi sebagai *yeast* antagonis. *Yeast* yang mampu menghambat strain sensitif akan diidentifikasi secara molekuler. Identifikasi *yeast* dilakukan dengan menggunakan data sekuens daerah *Internal Transcribed Spacers* (ITS) dari ribosomal DNA (rDNA).

Pada penelitian ini bertujuan ditemukannya *yeast* baru yang belum di~~explo~~re sehingga dapat menambah wawasan pengetahuan di bidang bioteknologi khususnya *yeast* yang terdapat dalam saluran pencernaan nyamuk. Proses aplikasi selanjutnya dapat dilakukan uji baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dalam tubuh nyamuk sebagai biokontrol vektor.

2. Tujuan

- 2.1 Mengisolasi *yeast* yang berpotensi sebagai antagonis dari saluran pencernaan nyamuk.
- 2.2 Mengetahui hubungan kekerabatan *yeast* berdasarkan data daerah sekuens ITS (*Internal Transcribed Spacer*).

3. Rumusan Masalah

Memperoleh dan mengidentifikasi *yeast* antagonis dari saluran pencernaan nyamuk.

4. Manfaat Penelitian

Mengetahui dan memperoleh *yeast* antagonis dari saluran pencernaan nyamuk.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

- 1.1 Diperoleh 2 isolat yang memiliki kemampuan antagonism dari saluran pencernaan nyamuk.
- 1.2 Berdasarkan data daerah sekuens ITS (*Internal Transcribed Spacer*), isolat NY24 memiliki kekerabatan yang dekat dengan kelompok *Microstromatales* sp, *Jaminaea* sp, dan *Quambalaria* sp. Sedangkan isolat NY38 memiliki kekerabatan yang dekat dengan kelompok *Candida* sp, *C. tropicalis*, *S. cerevisiae*, yang merupakan kelompok *killer yeast* kromosomal (*killer yeast non-VLE*) dan berbeda klaster dengan kelompok *killer yeast* VLE.

2. Saran

- 2.1 Perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan kondisi medium yang optimal untuk mengamati zona hambat dalam pengujian antagonisme.
- 2.2 Perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk mendapatkan target yang sesuai agar *yeast* mampu mensekresi *killer toxin* secara optimal.
- 2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi *yeast* sebagai biokontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D. 2000. Yeast: Characteristics and identification. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge (9): 1139.
- Cappelli, A., Ulisse, U., Valzano, M., Damiani, C., Epis, S., Gabrielli, MG., Conti, S., Polonelli, L., Bandi, C., Favia, G., Ricci, I. 2014. A *Wickerhamomyces anomalus* killer strain in the malaria vector *Anopheles stephensi*. PLoS ONE, 9(5): 1-9.
- Droby S., Chalutz E. 1994. Mode of action of biocontrol agents of postharvest disease. Dalam: Wilson CL, Wisniewski ME (editor). *Biological control of postharvest disease of fruit and vegetables theory and practice*. Boca Raton (US): CRC Press: 63-75.
- El-Banna A.A., El-Shan M.A., Shehata M. G. 2011. Yeast Producing Killer Toxins : An Overview. Alex.J.Sci.and Technol. Vol 8(2): 41-53.
- Francesca, N., Canale D.E., Settanni L., Moschetti G. 2012. Dissemination of wine-related yeasts by migratory birds. Env. Microbiol Rep 4(1): 105–112.
- Francesca, N., Carvalho, C., Sannino, C., Guerreiro, M.A., Almeida, P.A., Settanni, L., Massa, B., Sampaio, J.P., Moschetti, G. 2013. *Wickerhamomyces sylviae* f.a., sp nov., an ascomycetous yeast species isolated from migratory birds. International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology 63: 4824-4830.
- Francesca, N., Carvalho, C., Sannino, C., Guerreiro, M.A., Almeida, P.A., Settanni, L., Massa, B., Sampaio, J.P., Moschetti, G. 2014. Yeast vectored by migratory birds collected in the Mediterranean island of Ustica and description of *Phamffomyces usticensis* f.a.spnov., a new species related to the cactus ecoclade. FEMS Yeast Res 14: 910–921.
- Gibson, C.M., Hunter, M.S. 2010. Extraordinarily widespread and fantastically complex : comparative biology of endosymbiotic bacterial and fungal mutualists of insects. *Ecol Letters* 13(2): 223-234.
- Gomes, E.A., Kasaya, M.C., DeBarros E.G., Borgs A.C., Araujo E.F .2002. Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. *Genet Mol Biol* 25(4): 477-483
- Hamby, K.A., Hernandez, A., Boundy-Mills, K., Zalom FG .2012. Associations of Yeasts with Spotted-Wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*; Diptera: Drosophilidae) in Cherries and Raspberries. *Journal AEM*.78(14): 4869–4873.
- Harbach, R.E. 2007. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa* 1668: 591-638.
- James, S.A., Collins, M.D., Roberts, I.N. 1996. Use of an rRNA internal transcribed spacer region to distinguish phylogenetically closely related species of the genera *Zygosaccharomyces* and *Torulaspora*. *Int Jour of Systm Bacteriol* 46(1): 189-194.

- Kijpornyongpan, T. Aime, M.C. 2017. Taxonomic revisions in the Microstromatales: two new yeast species, two new genera, and validation of *Jaminaea* and two *Sympodiomyopsis* species. *Mycol progress*.16: 495-505.
- Klassen, R., Meinhardt, F. 2002. Linier Plasmids pWR1A and pWR1B of The Yeast *Wingea robertsiae* are Associated With a Killer Phenotype. *Plasmid* 48 (2): 142-148.
- Kurtzman, C.P., Fell, J.W. 1998. *The Yeast: A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, Amsterdam: 627-633.
- Kurtzman, C.P., Boekhout, T., Robert, V., Fell, J.W., Deak, T. 2003. Relationships among genera of the *Saccharomycotina* (*Ascomycota*) from multigene phylogenetic analysis of type species. *FEMS Research article* 13: 23-33.
- Lee, S.V., Bahaman, A.R. 2010. Modified Gel Preparation for Distinct DNA Fragment Analysis in Agarose Gel Electrophoresis. *Tropical Biomedicine* 27(2): 361-354.
- Lim, S.L., Tay, S.T. 2011. Diversity and killer activity of yeasts in Malaysian fermented food samples. *Tropical Biomedicine* 28(2): 438-443.
- Marquina, D., Santos, A., Peinado, J.M. 2002. Biology of killer yeast. *Int Microbiol* 5: 65-71.
- Muccilli, S., Restuccia, C., 2015. Bioprotective Role of Yeasts. *Microorganisms*: 588–611.
- Northrop, J.H. 1917. The role of yeast in the nutrition of an insect (*Drosophila*). *J. Biol.Chem.*30: 181-187.
- Passoth, V., Olstorpe, M., Schnürer, J., 2011. Past, present and future research directions with *Pichia anomala*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 99(1): 121–125.
- Perez M.F., Contreras L., Gamica N.M., Zenoff M.V.F., Farias M.E., Sepulveda M., Ramallo J., Dib J.R., 2016. Native Killer Yeast as Biocontrol Agents of Postharvest Fungal Diseases in Lemons. *PLoS One*: 1-21.
- Roux, J.A., Mthlane Z.L., Eisenberg, B., Wingfield, M.J. 2006. *Quambalaria* leaf and shoot blight on *Eucalyptus nitens* in South Africa. *Australasian Plant Pathology*: 427–433.
- Satwika, D., Klassen, R., Meinhardt, F. 2012. Anticodon nuclease encoding virus-like elements in yeast. *Appl Microbiol Biotechnol* 96(2): 345-356.
- Schaffrath, R., Stark, M.J.R., Gunge, N., Meinhardt, F. 1992. *Kluyveromyces lactis* killer system: *ORF1* of pGKL2 has no function in immunity expression and is dispensable for killer plasmid replication and maintenance. *Curr Genet* 21: 357-363.
- Schmitt, J.M., Breinig, F. 2006. Yeast viral killer toxin: lethality and self protection. *Nature*. 4:212-220.
- Schneider, J., Rupp, O., Trost, E., Jaenicke, S., Passoth, V., Goesmann, A., Tauch, A., Brinkrolf, K., 2012. Genome sequens of *Wickerhamomyces anomalus* DSM 6766 reveals genetic basis of biotechnologically important antimicrobial activities. *FEMS Yeast Research*, 12(3): 382–386.
- Schoch, C.L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, John L.C, Wen, Fungal Barcoding

Consortium. 2011. Nuklear ribosom internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode maker for Fungi. *PNAS* 109: 6241-6246.

Seal, J.N., Gus, J., Mueller, U.G. 2012. Fungus-gardening ants prefer native fungal species: do ants control their crops? *Behavioral Ecology* 23(6): 1250-1256.

Sjamsuridzal, W, A. Oetari. 2003. Workshop on rapid identification of yeast by molecular method and the use of bioinformatic tools for phylogenetic analysis. Center of excellence indigenous biological resources-genome studies: Depok 42.

Stam, J.C., Kwakman, J., Meijer, M., Stuitje, A.R. 1986. Efficient isolation of the linear DNA killer plasmid of *Kluyveromyces lactis* : evidence for location and expression in the cytoplasm and characterization of their terminally bound proteins. *Nucleic Acids Research* 14(7): 6871-6884.

Valzano, M. Cekarini, V., Cappelli, A., Capone, A., Bozic, J., Cuccioloni, M., Epis, S., Pretelli, D., Angeletti, D., Eleuteri AM., Favia, G., Ricci, I., 2016. A yeast strain associated to *Anopheles* mosquitoes produces a toxin able to kill malaria parasites. *Malaria Journal*, 15(1): 21. Available at: <http://www.malariajournal.com/content/15/1/21>.

Valiev, A., Ogel, Z.B. Klepzig, K.D. 2009. Analysis of cellulase and polyphenol oxide production by southern pine beetle associated fungi. *Symbiosis* 49(1): 37-42.

Zhimo, V.K., Dilip, D., Sten, J., Ravat, V.K., Bhutia, D.D., Panja, B., Saha, J.. 2016. Antagonistic Yeast for Biocontrol on the Banana Postharvest Anthracnose Pathogen *Colletotrichum musae*. *Journal of Phytopathology*: 35-43.