

**POTENSI EKSTRAK ISOLAT JAMUR ENDOSIMBION DAUN
Avicennia sp. DI PERAIRAN LAMPUNG SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)**

Skripsi

Oleh

**AFRISYAHNIA PUTRI
NPM 1714221003**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

THE ENDOSYMBIONTS FUNGI EXTRACT ISOLATED FROM LEAF MANGROVE OF *Avicennia* sp. AND THEIR POTENTIAL ACTIVITY AS AN ANTIBACTERIA AGAINST *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)

By

AFRISYAHNIA PUTRI

Typhoid fever is infectious disease caused by *Salmonella typhi* bacteria dan still as health problem in developing countries. In previous research, it was stated that *Salmonella typhi* bacteria were resistant to several antibiotics. Various methods had been used to obtain new antimicrobial compounds, one of them utilize endosymbiont fungi that were symbiotic in leaf tissue mangrove *Avicennia* sp. This study aimed to obtain endosymbiont fungi isolated from *Avicennia* sp. dan get extracts of endosymbiont fungi which had inhibitory activity against *Salmonella typhi*. The samples of endosymbiont fungi used were from *Avicennia alba* leaf dan extracted using maceration method with ethyl acetate as solvent. Kirby Bauer disc paper method was used to test the inhibitory activity. The results of the study obtained 12 isolated of endosymbiont fungi, dan five endosymbionts of them had the potential to inhibit *Salmonella thypi*, namely WB-D02M, WB-D05P, WB-D06P, PJ-D01L dan PJ-D02P isolated.

Keywords: *Avicennia* sp., endosymbion fungi, extract, *Salmonella thypi*.

ABSTRAK

POTENSI EKSTRAK ISOLAT JAMUR ENDOSIMBION DAUN *Avicennia* sp. DI PERAIRAN LAMPUNG SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)

Oleh

AFRISYAHNIA PUTRI

Demam tifoid merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi* dan masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa bakteri *Salmonella typhi* resisten terhadap beberapa antibiotik. Berbagai cara telah dilakukan untuk mendapatkan senyawa antibiok baru, salah satunya dengan memanfaatkan jamur endosimbion yang bersimbiosis pada jaringan daun mangrove *Avicennia* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat jamur endosimbion dari daun *Avicennia* sp. dan memperoleh ekstrak isolat jamur endosimbion daun mangrove *Avicennia* sp. yang memiliki aktivitas penghambat terhadap *Salmonella thypi*. Sampel jamur endosimbion yang digunakan berasal dari daun *Avicennia alba* dan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat. Metode kertas cakram Kirby Bauer digunakan untuk uji aktivitas daya hambat. Hasil penelitian diperoleh 12 isolat jamur endosimbion, di antaranya terdapat lima jamur endosimbion potensial yang memiliki kemampuan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella thypi*, yaitu isolat WB-D02M, WB-D05P, WB-D06P, PJ-D01L, dan PJ-D02P.

Kata kunci: *Avicennia* sp., ekstrak, jamur endosimbion, *Salmonella thypi*.

**POTENSI EKSTRAK ISOLAT JAMUR ENDOSIMBION DAUN
Avicennia sp. DI PERAIRAN LAMPUNG SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)**

Oleh

AFRISYAHNIA PUTRI

Skripsi

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Penelitian

: **Potensi Ekstrak Isolat Jamur Endosimbion Daun *Avicennia* sp. Perairan Lampung sebagai Anti-bakteri terhadap Bakteri *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)**

Nama Mahasiswa

: **Afrisyaenia Putri**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **1714221003**

Program Studi

: **Ilmu Kelautan**

Fakultas

: **Pertanian**

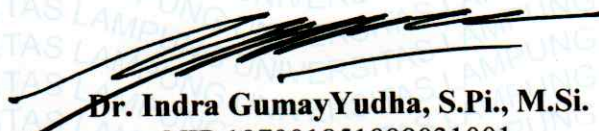


1. **Komisi Pembimbing**


Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP 197001851999031001


Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.
NIP 198810012019032014

2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**


Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP 197001851999031001

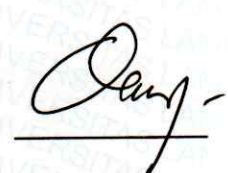
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

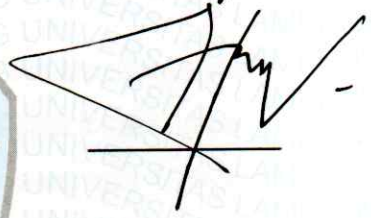
Ketua : **Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.**



Sekretaris : **Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.**



Anggota : **Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si.
NIP. 196110201986031002



Tanggal Lulus Ujian : **10 Maret 2022**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Afrisyahnia Putri

NPM : 1714221003

Judul Skripsi : Potensi Ekstrak Isolat Jamur Endosimbion Daun *Avicennia* sp.
Perairan Lampung sebagai Antibakteri terhadap Bakteri
Salmonella thypi (Theobald Smith, 1885)

Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari karya orang lain. Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 9 Juni 2022

A handwritten signature in black ink is written over a yellow and red 2000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '2000', 'METERAI TEMPEL', and 'C43 BAJX629620739'.

Afrisyahnia Putri
NPM 1714221003

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kota Baturaja, Kabupaten Ogan Komering Ulu, Provinsi Sumatera Selatan, pada tanggal 26 Maret 2000, dari Bapak Afrizal Syaiful dan Ibu Rania. Penulis merupakan anak sulung dari tiga bersaudara. Penulis menempuh pendidikan formal sebagai berikut dari Taman Kanak-Kanak Aisyah Baturaja (2004-2005), SDN 4 Ogan Komering Ulu (2005-2011), SMPN 2 Ogan Komering Ulu (2011-2014), dan SMAN 4 Ogan Komering (2014-2017). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan kejenjang Perguruan Tinggi di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017.

Selama perkuliahan penulis aktif sebagai anggota organisasi Forum Studi Islam Fakultas Pertanian (Fosi FP) pada periode 2017-2019 dan organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota kepengurusan periode 2018/2019-2019/2020. Penulis menjadi asisten dosen beberapa mata kuliah antara lain Ekologi Perairan, Planktonologi, dan Mikrobiologi Laut. Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sidomukti, Kecamatan Sekampung, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Pada tahun 2019 penulis pernah magang di Pusat Riset Kelautan Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan (BRSDM KP), Jakarta Utara, DKI Jakarta. Penulis juga telah melaksanakan Praktik Umum di Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dengan judul “Potensi Antibakteri Jamur Endo-fit dari Daun dan Batang *Avicennia* sp. terhadap Bakteri Penyebab Vibriosis (*V. harveyi*, *V. algi-nolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*).”

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah Subhanahu wa ta'ala, karena atas rahmat dan hidayah-Nya serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan.

Kupersembahkan karya ini kepada orang yang sangat kusayangi dan kukasihi

Ibunda dan Ayahanda Tercinta

Sebagai tanda bukti dan rasa terima kasih tiada terhingga kupersembahkan karya sederhana dan imbuhan kecil di belakang namaku kepada Bunda Rania dan Ayah Afrizal Syaiful yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, ridho, dan cinta kasih yang tiada terhingga. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Bunda dan Ayah bahagia, karena kusadar selama ini belum bisa berbuat lebih untuk membahagiakan kalian.

Adik-adik dan Orang terdekatku

Sebagai tanda terima kasih, kupersembahkan karya ini untuk adik-adikku tersayang, Arabela Maulidina dan Hisyam Al fariq, serta keluarga besar Sarwani dan Syaiful Idris.

Teman-teman

Kepada teman-teman seperjuangan Jurusan Perikanan dan Kelautan 2017, khususnya program studi Ilmu Kelautan 2017, yang sangat kusayangi serta teman-teman semua yang tak dapat kusebutkan namanya satu per satu yang telah memberikan motivasi, nasihat dukungan moral serta material.

MOTTO HIDUP

**“Menuntut ilmu adalah takwa. Menyampaikan ilmu adalah ibadah.
Mengulang-ulang ilmu adalah zikir. Mencari ilmu adalah jihad”**

(Abu Hamid Al Ghazali)

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(Hadits Riwayat Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutumi)

“Don't give up, stay healthy and always happy ”

(Afrisyahnia Putri)

SANWACANA

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah Subhanahu Wata'ala, karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyusun skripsi yang berjudul “Potensi Ekstrak Isolat Jamur Endosimbion Daun *Avicennia* sp. di Perairan Lampung sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella thypi* (Theobald Smith, 1885)” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis akan menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Allah Subhanahu Wata'ala berkat nikmat yang diberikan tiada henti kepada penulis
2. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Dr. Indra Gumay Yudha, S. Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan dan Dosen Pembimbing I (pengganti).
4. Dr. Mahrus Ali, S.Pi., M.P. (alm), selaku Dosen Pembimbing I.
5. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II.
6. Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T., selaku Dosen Penguji.
7. Ayah, Bunda, dan keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi semangat
8. Teman-teman Program Studi Ilmu Kelautan angkatan 2017.

Semoga segala bimbingan, arahan dan dukungan baik moril maupun materil yang telah diberikan kepada penulis akan mendapatkan balasan dari Allah Subhanahu wa ta'ala. Aamiin.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, namun penulis berharap kiranya skripsi ini dapat membantu dan memberikan informasi bagi para pembaca.

Bandar Lampung, 9 Juni 2022

Afrisyahnia Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pikir	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Mangrove <i>Avicennia</i> sp.....	5
2.2 Potensi Senyawa Bioaktif pada Mangrove <i>Avicennia</i> sp.....	6
2.3 Potensi Jamur Endosimbion Mangrove Antibakteri.....	7
2.4 Bakteri Patogen <i>Salmonella thypi</i>	8
2.5 Ekstraksi.....	9
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	11
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Koleksi Sampel	16
3.3.2 Pembuatan Media.....	17
3.3.3 Isolasi Sampel Daun <i>Avicennia</i> sp.....	18
3.3.4 Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur.....	18
3.3.5 Skrining Aktivitas Daya Hambat Jamur Endosimbion.....	19
3.3.6 Pengamatan Mikroskopik Jamur Endosimbion Potensial	19
3.3.7 Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endosimbion Daun <i>Avicennia</i> sp.	20
3.3.8 Uji Aktivitas Daya Hambat Metode Kirby Baurer.	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Identifikasi Jenis Mangrove.....	22
4.2 Isolasi Jamur Endosimbion.....	23

4.3 Skrining Aktivitas Daya Hambat Jamur Endosimbion	25
4.4 Karakteristik Jamur Endosimbion Potensial	27
4.4.1 Isolat WB-D02M	27
4.4.2 Isolat WB-D05P.....	28
4.4.3 Isolat WB-D06P.....	29
4.4.4 Isolat PJ-D01L	29
4.4.5 Isolat PJ-D02P	30
4.5 Ekstrak Jamur Endosimbion	31
4.6 Uji Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Jamur Endosimbion	33
V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Potensi khasiat medis pada beberapa mangrove di Indonesia	6
2. Bahan yang digunakan	13
3. Alat yang digunakan	14
4. Kategori diameter zona hambat	19
5. Karakteristik makroskopik isolat jamur endosimbion	24
6. Zona hambat uji aktivitas antibakteri isolat jamur endosimbion terhadap <i>Salmonella thypi</i>	25
7. Hasil ekstraksi jamur endosimbion	32
8. Zona hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endosimbion	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	4
2. Bentuk <i>Salmonella typhi</i>	9
3. Diagram alir metode penelitian.....	15
4. Lokasi sampling Desa Pagar Jaya, Pantai Kucing Riang, Kabupaten Pesa waran.....	16
5. Peta lokasi sampling Way Belau, Kota Karang, Bdanar Lampung	17
6. Bagian mangrove <i>Avicennia alba</i>	22
7. Pengamatan isolat WB-D02M makroskopik dan mikroskopik	27
8. Pengamatan isolat WB-D05P makroskopik dan mikroskopik.....	28
9. Pengamatan isolat WB-D06P makroskopik dan mikroskopik.....	29
10. Pengamatan isolat PJ-DO1L makroskopik dan mikroskopik	30
11. Pengamatan isolat PJ-D02P makroskopik dan mikroskopik	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perbedaan aktivitas daya hambat isolat jamur endosimbion terhadap <i>Salmonella typhi</i>	44
2. Perbedaan aktivitas daya hambat ekstrak isolat jamur endosimbion terhadap <i>Salmonella typhi</i>	45
3. Perhitungan rendemen ekstrak jamur endosimbion daun <i>Avicennia alba</i>	48
4. Perhitungan konsentrasi ekstrak jamur endosimbio <i>Avicennia alba</i> pada uji aktivitas antibakteri.....	49
5. Isolat jamur endosimbion daun mangrove <i>Avicennia alba</i>	50
6. Zona hambat ekstrak isolat jamur terhadap <i>Salmonella typhi</i>	52
7. Kegiatan selama penelitian	54
8. Diagram alir ekstraksi isolat jamur endosimbion potensial.....	56
9. Pembuatan media MEA (<i>malt extract agar</i>) di cawan petri	57
10. Pembuatan media MEA (<i>malt extract agar</i>) miring di tabung reaksi.....	58
11. Pembuatan media MEB (<i>malt extract agar</i>).....	59
12. Pembuatan media NB (<i>nutrient broth</i>) di tabung reaksi untuk kultur bakteri patogen.....	60
13. Pembuatan media NA (<i>nutrient agar</i>) di cawan petri untuk uji aktivitas antibakteri.....	61

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hutan mangrove merupakan salah satu sumber daya alam yang potensial di Indonesia. Terletak pada daerah pasang surut wilayah pesisir, pantai dan pulau-pulau kecil. Hutan mangrove memiliki nilai ekonomis dan ekologis tinggi. Fungsi hutan mangrove secara ekonomi di antaranya sebagai penyedia kayu, daun sebagai bahan baku obat-obatan. Fungsi ekologis hutan mangrove sebagai penyediaan nutrisi bagi biota perairan, tempat pemijahan dan asuhan bagi berbagai macam biota, pencegahan abrasi, amukan angin topan dan tsunami, penyerapan limbah serta pencegahan intrusi air laut (Halidah, 2014).

Jenis mangrove yang cukup banyak tersebar di Indonesia adalah genus *Avicennia*. Mangrove *Avicennia* sp. telah lama dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Hampir seluruh bagian dari tubuh *Avicennia* sp. memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid, fenolik dan glikosida dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik, antiradang, antimikroba, dan sitotoksik (Darminto *et al.* , 2009). Beberapa ilmuwan menyatakan bahwa, bioaktivitas yang terdapat dalam bagian-bagian tumbuhan mangrove tidak selalu berasal dari tumbuhan mangrove tersebut, namun dapat berasal dari organisme lain yang hidup pada bagian tubuh mangrove dan organisme ini mampu mensintesis senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri, contohnya seperti mikroba endosimbion (Li-wang, 2014).

Mikroba endosimbion dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang potensial untuk dikembangkan menjadi obat karena mikroba merupakan organisme yang mudah

ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi. Mikroba endosimbion yang paling umum ditemukan yaitu jamur (Strobel *et al.*, 2005). Jamur endosimbion yang hidup pada jaringan tumbuhan mampu menghasilkan senyawa yang memiliki khasiat sama dengan tumbuhan inangnya, walaupun jenis senyawanya dapat berbeda (Strobel *et al.*, 2004). Peran mikroba endosimbion memproduksi metabolit sekunder sama kualitasnya dengan tanaman aslinya sehingga sangat potensial untuk terus dikembangkan guna memperoleh metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit (Radji, 2005).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari mikroba endosimbion diharapkan mampu menghasilkan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri. Antibakteri dapat diartikan sebagai bahan yang mampu menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Tujuan utama dihasilkannya senyawa antibakteri adalah agar dapat mengendalikan mikroorganisme yang bersifat patogen sehingga dapat mencegah penyebaran penyakit dan infeksi (Pelczar dan Chan, 2005), contohnya seperti bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri patogen *Salmonella typhi* merupakan bakteri penyebab demam tifoid, yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakteremia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati. Demam tifoid merupakan penyakit menular yang tersebar di seluruh dunia, dan sampai sekarang masih menjadi masalah kesehatan terbesar di negara sedang berkembang dan beriklim tropis (Cita, 2011).

Di Indonesia, demam tifoid tidak dijumpai secara endemis namun sering dijumpai pada kota-kota besar. Kejadian kasus tifoid pada pria dan wanita tidak memiliki perbedaan yang berarti, namun angka kejadian tertinggi ditemukan pada usia remaja. Data terbaru dari WHO (*World Health Organisation*), diperkirakan bahwa setiap tahun diseluruh dunia terdapat antara 11-21 juta kasus demam tifoid dengan insiden kematian sebanyak 128.000 hingga 161.000 (WHO, 2018). Menurut Hartoyo *et al.* (2016) antibiotik golongan siprofloksasin, sefiksim dan azitromisin masih tergolong sensitif untuk kuman *Salmonella typhi* sebesar lebih dari 75%, anti-biotik kotrimoksazol, asam nalidiksat tergolong sensitif menengah tingkat

sensitivitas lebih dari 60%, sedangkan antibiotik golongan ampisilin, amoksilin, dan kloramfenikol terjadi resisten.

Dengan adanya permasalahan yang timbul mengenai resistensi bakteri *Salmonella thypi* terhadap antibiotik tersebut dibutuhkan sumber antibiotik baru yang lebih efektif dalam mengatasi permasalahan tersebut, seperti dengan memanfaatkan jamur endosimbion dari daun mangrove *Avicennia* sp. sebagai sumber bahan antibiotik baru. Daun mangrove dipilih karena merupakan bagian yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional (Rosyada *et al.*, 2018). Mangrove mengandung senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri atau antimikroba (Ibrahim *et al.*, 2019). Menurut Nagababu dan Rao (2012) ekstrak daun *Avicennia alba* mengandung senyawa karbohidrat, tanin, steroid, terpenoid, saponin, flavanoid, alkaloid. Ekstrak daun *Avicennia alba* terdeteksi memiliki daya hambat pada bakteri *Salmonella enterica* dan *Erwinia hebricola* (Nagababu dan Rao (2012), Das (2020)). Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan suatu penelitian terhadap jamur endosimbion dari daun mangrove *Avicennia* sp. yang berpotensi besar menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan isolat jamur endosimbion dari daun mangrove *Avicennia* sp.
2. Memperoleh ekstrak isolat jamur endosimbion daun *Avicennia* sp. yang memiliki aktivitas penghambat terhadap bakteri *Salmonella thypi*.

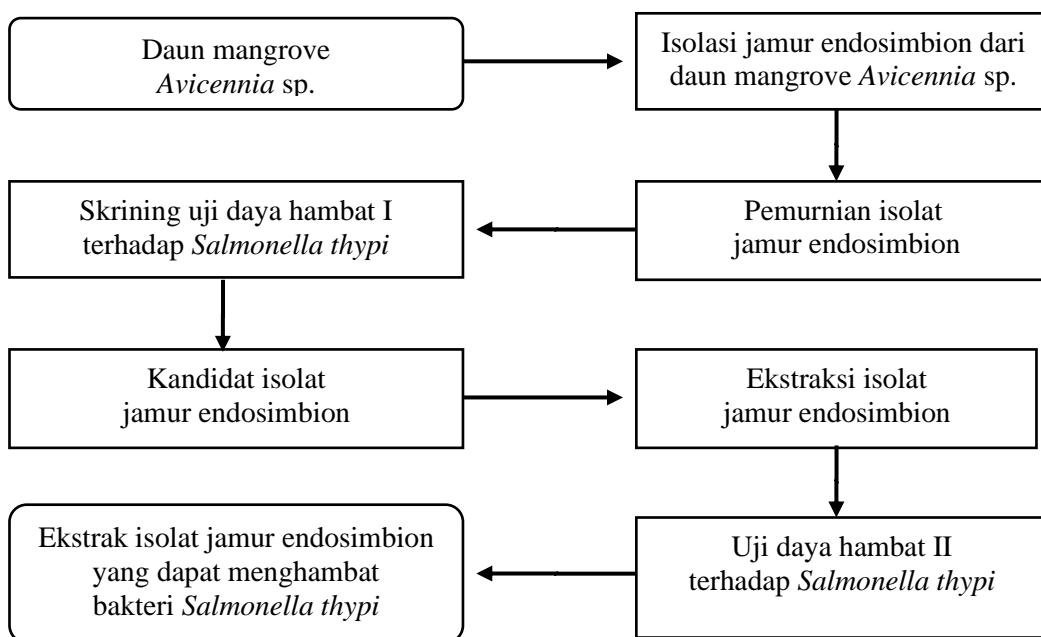
1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yaitu diperoleh informasi mengenai potensi antibakteri ekstrak jamur endosimbion daun *Avicennia* sp. di Perairan Lampung terhadap bakteri *Salmonella thypi*.

1.4 Kerangka Pikir

Penyakit demam tifoid merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* umum ditemukan di negara beriklim tropis seperti di Indonesia. Dalam penanganannya penyakit ini dapat diatasi dengan pemberian antibiotik. Namun seiring dengan perkembangan dan penggunaannya, antibiotik diketahui dapat menyebabkan masalah baru yaitu munculnya resistensi yang disebabkan oleh penggunaan yang berlebihan serta perubahan virulensi bakteri terhadap antibakteri (Rahman, 2019). Adanya resistensi menjadi alasan dilakukannya pencarian senyawa bioaktif baru untuk di-jadikan sebagai bahan obat.

Jamur endosimbion memiliki kemampuan memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya (Noverita dan Sinaga, 2009). Menurut Tan dan Zou (2000), mikroba endosimbion memiliki kelebihan sebagai sumber senyawa bioaktif, karena mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup pendek dan mampu menghasilkan senyawa bioaktif dengan metode fermentasi. Jamur endosimbion dari daun mangrove *Avicennia* sp. dapat dimanfaatkan untuk menemukan senyawa bioaktif baru yang berpotensi sebagai produk alternatif pengganti antibiotik komersil terhadap bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove *Avicennia* sp.

Mangrove adalah tumbuhan halofit yang hidup sepanjang areal pantai yang dipengaruhi oleh pasang tertinggi sampai daerah mendekati ketinggian rata-rata air laut yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Dengan demikian secara ringkas hutan mangrove dapat didefinisikan sebagai suatu tipe hutan yang tumbuh di daerah pasang surut (terutama di pantai yang terlindung, laguna, muara sungai) yang tergenang pada saat pasang dan bebas dari genangan pada saat surut yang komunitas tumbuhannya bertoleransi terhadap garam (Aksornkoe, 1993).

Avicennia merupakan marga yang memiliki kemampuan toleransi terhadap kisaran salinitas yang luas dibandingkan jenis lainnya. *Avicennia* mampu tumbuh dengan baik pada salinitas yang mendekati tawar sampai dengan 90‰ (Rusila *et al.*, 2006). Contoh spesies dari genus *Avicennia* yang sering dijumpai di Indonesia diantaranya *Avicennia officinalis*, *Avicennia alba*, *Avicennia lanata*, *Avicennia marina* (Kitamura *et al.*, 1997).

Avicennia sp. mempunyai toleransi yang tinggi pada salinitas air laut dari yang rendah sampai yang tinggi 30 ppt. *Avicennia* sp. memiliki beberapa ciri, antara lain memiliki akar napas yakni akar percabangan yang tumbuh dengan jarak teratur secara vertikal dari akar horizontal yang terbenam di dalam tanah. Buah berbentuk bulir seperti mangga, ujung buah tumpul, daun berbentuk elips dengan ujung tumpul dan panjang, permukaan atas daun berwarna hijau mengkilat dan permukaan bawah berwarna hijau abu-abu dan suram (Halidah, 2014).

2.2 Potensi Senyawa Bioaktif Mangrove

Pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan mangrove (terutama jenis pohon dari genus *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia* dan *Sonneratia*) secara tradisional oleh masyarakat pesisir di Indonesia telah lama berlangsung sejak beberapa abad yang lalu. Pemanfaatan secara tradisional dari berbagai jenis tumbuhan mangrove tersebut merupakan pemanfaatan tingkat awal dari sumberdaya mangrove berdasarkan pengetahuan lokal masyarakat yang sampai saat ini tidak terdokumentasikan secara baik. Khusus untuk jenis api-api (*Avicennia* spp.), masyarakat pesisir di Indonesia sudah sejak lama memanfaatkannya secara tradisional untuk memenuhi kebutuhan pangan seperti obat-obatan, kayu bakar, konstruksi bangunan rumah dan pakan ternak (Kusmana *et al.*, 2009).

Tabel 1. Potensi khasiat medis pada beberapa mangrove di Indonesia

Nama Latin	Khasiat
<i>Acanthus ilicifolius</i>	Perangsang libido, asma, diabetes, diuretic, hepatitis, leprosy, neuralgia, cacing gelang, rematik, penyakit kulit, tumor, borok
<i>Avicennia alba</i>	Rematik, cacar borok
<i>Avicennia marina</i>	Aphrodisiac, diuretic, hepatitis, leprosy
<i>Avicennia officinalis</i>	Hepatitis, antitumor
<i>Bruguiera cylindrical</i>	Sakit mata
<i>Bruguiera exaristata</i>	Menahan pendarahan
<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	Infeksi telinga
<i>Ceriops tagal</i>	Sengatan ubur-ubur
<i>Hisbiscus tiliaceus</i>	Anti fertilitas, asma, diabetes, patukan ular
<i>Ipomoea pes-capre</i>	Asma, diabetes, kusta, rematik, patukan ular
<i>Lumnitzera racemosa</i>	Demam, borok, rematik, kudis, sinusitis
<i>Pluchea indica</i>	Anti muntah, antiseptik, diare, haemostatic, hepatitis, menghentikan pendarahan, typhoid
<i>Rhizophora apiculata</i>	Beri-beri, febrifuge, haematoma, hepatitis, borok
<i>Rhizophora mucronata</i>	Bengkak, keseleo

Sumber: (Purnobasuki, 2004):

Pada beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa mangrove *Avicennia* sp. mengandung senyawa bioaktif. Menurut Alhaddad *et al.* (2019) berdasarkan uji fitokimia, ekstrak daun *Avicennia* sp. memiliki kandungan senyawa bioaktif yang terdiri dari senyawa steroid, triterpenoid, flavonoid, alkaloid dan polifenol. Hasil analisis senyawa aktif pada ekstrak daun *Avicennia marina* teridentifikasi senyawa 1,2 propadiene, naftalen, dimetil tetrametil suksinat, lucidol, isofilokladen, di-oxepane (Wibowo *et al.*, 2009). Ekstrak daun etil asetat dari mangrove *Avicennia alba* berdasarkan hasil uji fito-kimia ekstrak daun *Avicennia alba* mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, tannin/fenol, steroid/triterpenoid (Rahmania *et al.*, 2018).

2.3 Potensi Jamur Endosimbion Mangrove sebagai Antibakteri

Endosimbion adalah organisme yang hidup dalam tumbuhan memiliki fungsi untuk mempertahankan eksistensi dari inang supaya dapat bertahan hidup dan mempertahankan diri dari organisme patogen dan predator utama. Endosimbion dapat berupa jamur, bakteri dan alga mikro (Bara *et al.*, 2015). Jamur endosimbion adalah salah satu mikroba penghasil senyawa bioaktif yang tumbuh dalam jaringan tumbuhan (inang) terutama di bagian akar, batang dan daun. Jamur endosimbion dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini diduga karena jamur endosimbion mengalami koevolusi transfer genetik dari inangnya (Hasiani *et al.*, 2015).

Jamur endosimbion dapat menghasilkan metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, merupakan peluang untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri (Radji, 2005). Metabolit sekunder sendiri merupakan senyawa organik yang disintesis oleh makhluk hidup seperti tumbuhan yang dimanfaatkan untuk menunjang kehidupannya seperti mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Metabolit sekunder termasuk senyawa metabolit tidak esensial yang terdiri dari golongan senyawa utama terpenoid, fenil propanoid, poliketida, dan alkaloid (Saifudin, 2014).

Strobel dan Daisy (2003) menyebutkan bahwa ada beberapa ketentuan dalam penentuan tumbuhan untuk isolasi fungi endofit diantaranya adalah:

1. Tumbuhan berasal dari lingkungan yang unik, terutama tumbuhan yang hidup dalam kondisi biologi yang tidak biasa dan memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam keadaan kritis.
2. Tumbuhan yang memiliki etnobotani (digunakan oleh masyarakat).
3. Tumbuhan endemik yang tumbuh di area yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi.

Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya jamur endosimbion mangrove diketahui menghasilkan senyawa metabolit sekunder dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Jamur endosimbion yang diisolasi dari daun muda mangrove jenis *Avicennia marina* yang berasal dari Pearl River Estuary, Tiongkok Selatan terdeteksi mengandung senyawa isocoumarins (Huang *et al.*, 2007). Senyawa isocoumarin bermanfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, antialergi, antitrombotik, antivirus dan antikanker (Setiawan dan Rakhmawaty, 2014). Berdasarkan hasil pengujian jamur endofit, dapat disimpulkan bahwa jamur endofit yang diisolasi dari daun *Mangrove* jenis *Avicennia marina* memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan kedua jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* (Kasi *et al.*, 2015).

2.4 Bakteri Patogen *Salmonella typhi*

Salmonella typhi disebut juga *Salmonella choleraeszlis serovar typhi*, *Salmonella serovar typhi*, *Salmonella enterica serovar typhi*. *Salmonella typhi* adalah strain bakteri yang menyebabkan terjadinya demam tifoid. Demam tifoid merupakan penyakit infeksi serius dan merupakan penyakit endemis yang menjadi masalah kesehatan global, termasuk di Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara (Darmawati, 2009).

Bentuk dari bakteri *Salmonella typhi* adalah batang, tidak berspora, ukuran 103,5 μm x 0,5-0,8 μm , besarnya koloni rata-rata 2-4 mm, memiliki flagela *peritrikh*. Bakteri ini memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi

tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa (Jawetz *et al.*, 2006).

Klasifikasi taksonomi *Salmonella typh* sebagai berikut (Krieg *et al.*, 2011):

Divisi : Bacteria
Kelas : Proteobacteria
Bangsa : Enterobacteriales
Suku : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Spesies : *Salmonella typhi*



Gambar 2. Bentuk *Salmonella typhi*
Sumber :Setiarto (2020)

Salmonella thypi termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang dan bersifat patogenik *Salmonella thypi* dua membran (luar dan dalam membran), periplasma dan rantai lipopolisakarida yang tersusun atas α -*d*-galaktosil, α -*d* manosil dan rhamosil yang tersusun secara berulang dan mempunyai residu 3,6 dideoksi-heksosa (Contreras *et al.*, 1997).

2.5 Ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Ada beberapa target ekstraksi yaitu, senyawa bioaktif yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme. Kelompok senyawa suatu organisme yang berhubungan secara structural (Sarker, *et al* 2006).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Tetti, 2014).

Berbagai metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

1. Maserasi, merupakan proses ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel dan diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan sampel. Indikasi bahwa sampel telah terekstraksi secara sempurna yaitu pelarut yang digunakan tidak lagi berwarna. Kelebihan metode ini, yaitu alat yang digunakan sederhana, dapat digunakan untuk sampel yang tahan panas maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Adapun kekurangannya yaitu menghabiskan banyak pelarut (Leba, 2017).
2. Perkolasi, merupakan ekstraksi yang dilakukan secara perlahan pada sampel dalam suatu perlokator. Pada ekstraksi jenis ini, pelarut ditambahkan secara terus menerus, sehingga proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut yang baru. Pola penambahan pelarut dilakukan dengan menggunakan pola penetes pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau dilakukan dengan penambahan pelarut dalam jumlah besar (Leba, 2017).
3. Sokletasi, merupakan metode ekstraksi yang menggunakan soklet. Prinsipnya yaitu ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Jika ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga didapatkan ekstrak. Pelarut yang digunakan biasanya mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah (Leba, 2017).
4. *Ultrasound assisted solven extraction*, merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Serbuk sampel ditempatkan dalam sebuah wadah kemudian ditempatkan ke dalam *ultra-sonic* dan *ultrasound*. Tujuannya untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut meningkatkan hasil ekstraksi (Tetti, 2014).

Hasil dari proses ekstraksi akan mendapatkan nilai rendemen atau perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin, *et al.*, 2006). Menurut Nurhayati *et al.* (2009) menyatakan bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Dari nilai persen menunjukkan bahwa semakin besar rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dan tidak mengesampingkan sifat-sifat lain (Dewatisari *et al.*, 2017).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Sensitivitas merupakan zona hambat yang terjadi pada antibiotik terhadap bakteri, apabila tampak adanya zona hambatan di sekeliling cakram, maka bakteri yang diuji sensitif terhadap antibiotika (Novita, 2016). Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 1995).

Antibakteri merupakan suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri. Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan beberapa cara seperti merusak dinding sel dilakukan dengan cara menghambat terjadinya reaksi peptidasi pada proses sintesis peptidoglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat membuat terjadi, merusak membran sel yaitu senyawa antibakteri dapat mempengaruhi sifat semipermeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran yang dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang osmosis dan juga mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel, mengganggu sintesis protein yaitu penghambatan pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara menghambat terjadinya proses peptidiltransferase yang dapat mengganggu proses pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang terbentuk, dan menghambat kerja enzim (Pelczar dan Chan, 2005)

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu metode dilusi dan metode difusi (Jawetz *et al.*, 1995) :

1. Metode dilusi, merupakan metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Keuntungan mikrodilusi cair adalah uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan.
2. Metode difusi, merupakan metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih/bening di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada 1 Maret-16 Agustus 2021. Pengambilan sampel dilakukan di komunitas mangrove Desa Pagar Jaya, Kecamatan Punduh Pidada, Kabupaten Pesawaran, Lampung dan komunitas mangrove muara Sungai Way Belau, Kota Karang, Kecamatan Teluk Betung Timur, Lampung. Analisis sampel yang dilakukan di Laboratorium Budidaya Perairan dan Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Berikut adalah daftar alat dan bahan yang digunakan selama penelitian:

Tabel 2. Bahan yang digunakan

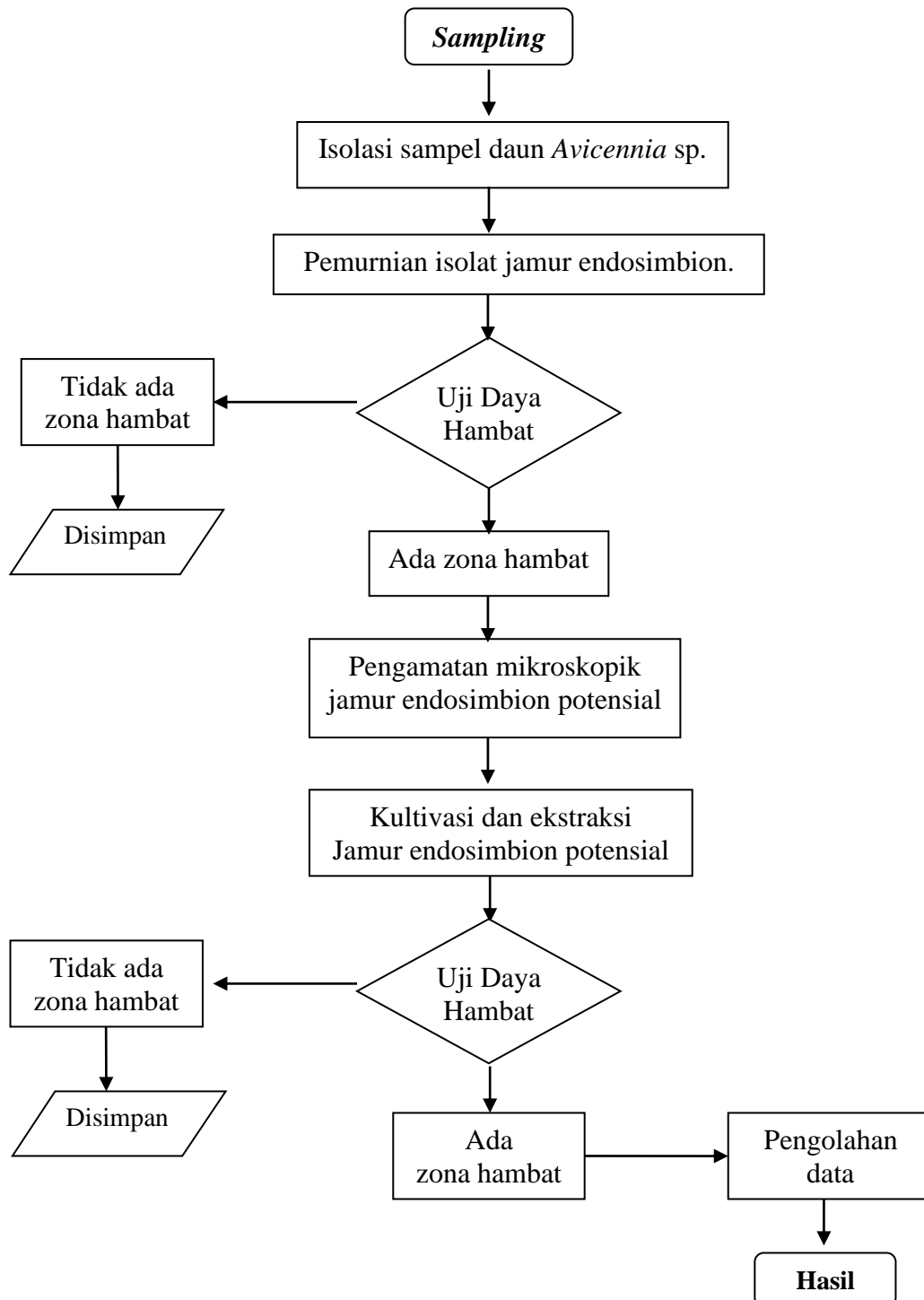
No.	Bahan	Keterangan / fungsi
1	Akuades	Pelarut media, sterilisasi autoklaf.
2	Air laut steril	Pelarut media.
3	Alkohol 70%	Disinfektan, sterilisasi alat dan diri.
5	Kloramfenikol	Sebagai kontrol positif (+), menghindari kontaminasi media.
6	Etil asetat	Sebagai pelarut ekstrak.
7	MEA (<i>malt extract agar</i>)	Media padat tumbuh jamur.
8	MEB (<i>malt extract agar</i>)	Media cair tumbuh jamur.
9	NA (<i>nutrient agar</i>)	Media padat tumbuh bakteri.
10	NB (<i>nutrient broth</i>)	Media cair tumbuh bakteri.
11	<i>Malt, yeast, peptone</i> dan agar	Bahan media kultur.
12	<i>Salmonella typhi</i>	Bakteri untuk uji daya hambat.

Tabel 3. Alat yang digunakan

No.	Alat	Keterangan / fungsi
1	Autoklaf	Sterilisasi alat dan bahan.
2	Bunsen	Sterilisasi didalam <i>laminar airflow</i> .
3	Cawan petri	Wadah media tumbuh mikroba.
4	<i>Coolbox</i>	Alat penyimpanan sampel.
5	<i>Coolpack</i>	Alat pendingin pada <i>coolbox</i> .
6	Erlenmeyer	Mengukur dan mencampur larutan.
7	Gelas ukur	Mengukur pelarut saat membuat media.
8	<i>Hotplate</i>	Menghomogenkan dan memanaskan media.
9	Inkubator	Inkubasi mikroba dengan suhu terkontrol.
10	Jangka sorong	Untuk mengukur zona bening.
11	Jarum ose	Untuk menginokulasi mikroba.
12	Kamera ponsel	Dokumentasi.
13	Jas lab, masker, sarung tangan	Alat pelindung tubuh agar tetap steril.
14	<i>Laminar airflow</i>	Melakukan kegiatan penelitian.
15	Laptop	Mencatat dan mengolah data hasil uji.
16	Lemari Pendingin	Menyimpan media kosong.
17	Alat tulis	Mencatat data.
18	Pinset	Mengambil dan meletakkan kertas cakram.
19	Pipet tetes	Mengambil larutan.
20	Pisau/Cutter	Memotong, menyayat sampel.
21	<i>Shaker</i>	Menghomogenkan larutan.
22	Tabung reaksi	Wadah media tumbuh isolat .
23	Timbangan digital	Untuk menimbang massa suatu zat.
24	<i>Papper disk</i>	Tempat meletakkan ekstrak untuk uji aktivitas antibakteri.
25	Corong	Memindahkan larutan.
26	Pipet tetes	Memindahkan larutan ke wadah lain.
27	Spektrofotometer	Menghitung jumlah kepadatan bakteri.
28	Kertas label	Mendanai sampel.
29	Karet gelang	Merekatkan penutup .
30	Kain kasa, kapas	Penutup tabung reaksi, dan Erlenmeyer.
31	Plastik tahan panas	Membungkus alat dan bahan saat sterilisasi.
32	Plastik wrap	Membungkus cawan petri.
33	Kertas saring	Memisahkan serasah jamur dengan cairan ekstrak jamur.
34	Botol kaca	Wadah untuk kultivasi jamur endosimbion.
35	Botol vial	Wadah ekstrak kasar.
36	Aluminium foil	Penutup tabung reaksi dan erlenmeyer.

3.3 Prosedur Penelitian

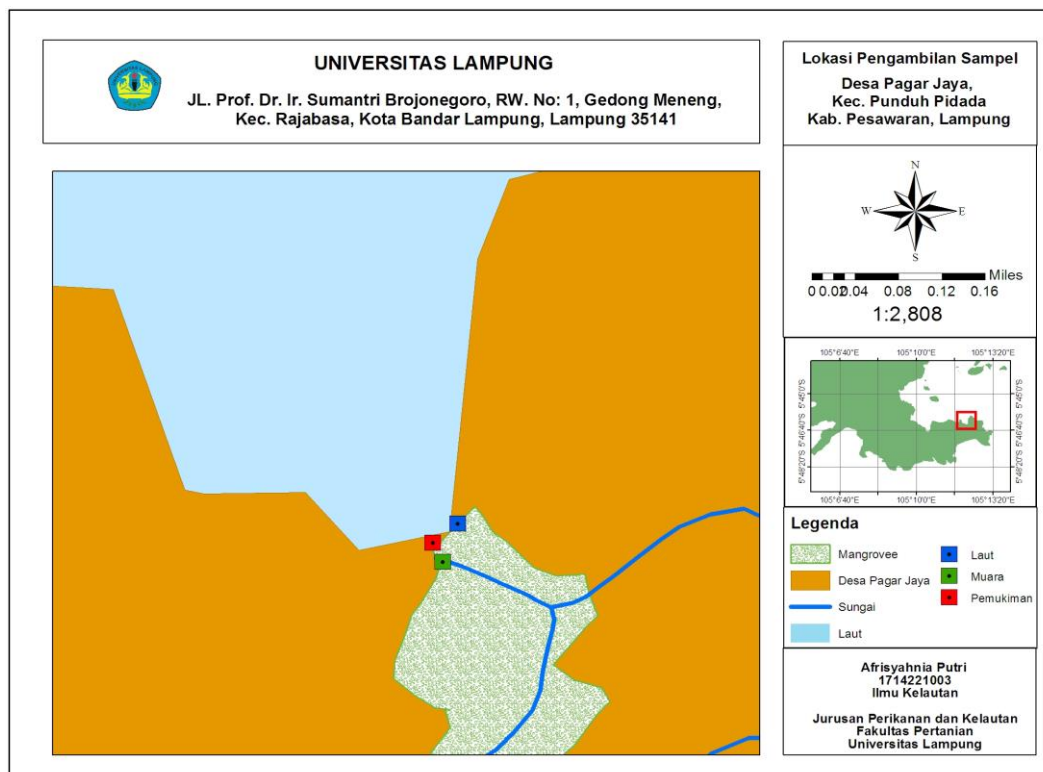
Berikut adalah tahapan penelitian yang dilakukan:



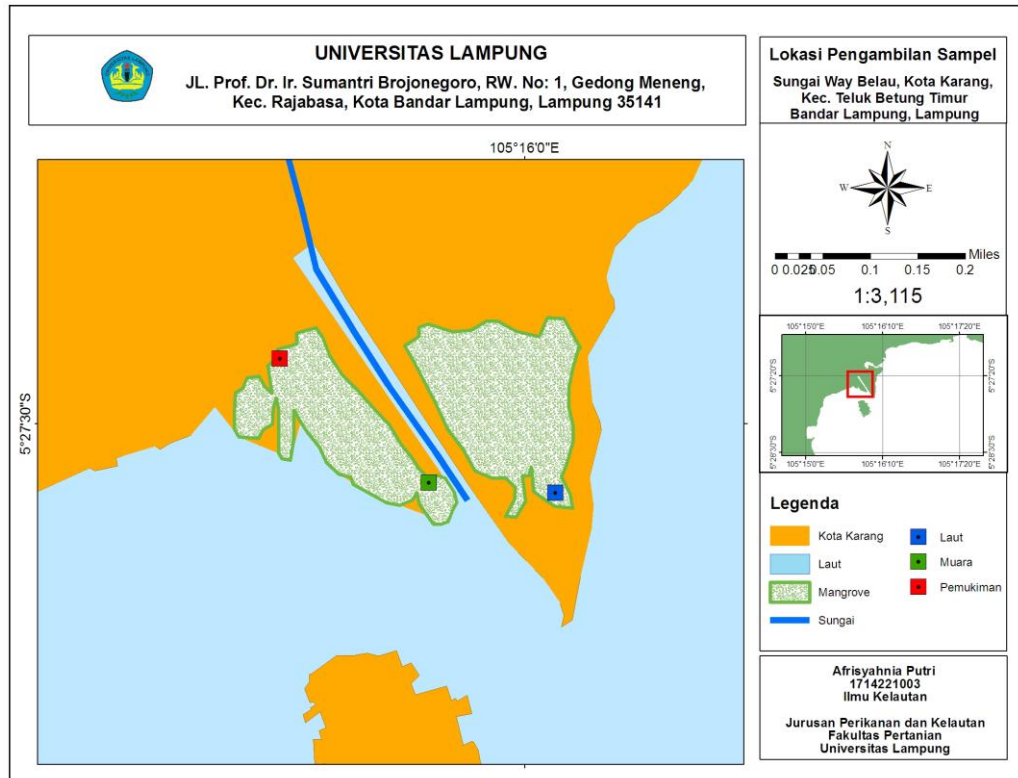
Gambar 3. Diagram alir metode penelitian

3.3.1 Koleksi Sampel

Sampel daun diambil dari mangrove *Avicennia* sp. di komunitas mangrove Desa Pagar Jaya, Kecamatan Punduh Pidada, Kabupaten Pesawaran dan Way Belau, Kota Karang, Bandar Lampung. Pada setiap titik dipilih secara acak tiga pohon mangrove kemudian diambil bagian daun dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Setiap sampel dimasukkan ke dalam plastik zip dan disimpan dalam *coolbox* agar sampel tidak terkontaminasi dan tetap segar. Setiap sampel dimasukkan ke dalam plastik zip dan disimpan dalam *coolbox* agar sampel tidak terkontaminasi dan tetap segar. Sampel daun disterilisasi dengan mencuci sampel menggunakan air laut steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran, selanjutnya direndam menggunakan alkohol 70 % selama 30 detik. Perendaman dilakukan sebanyak dua kali untuk memastikan sampel dalam keadaan steril. Kemudian dikeringkan sampai tidak terdapat lagi sisa alkohol yang menempel, setelah itu sampel siap untuk diisolasi (Kjer *et al.*, 2010).



Gambar 4. Lokasi sampling Desa Pagar Jaya, Kecamatan Punduh Pidada, Kabupaten Pesawaran



Gambar 5. Lokasi sampling Way Belau, Kota Karang, Bandar Lampung

3.3.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan yaitu media MEA (*malt extract agar*) dan media MEB (*malt extract broth*) sebagai media kultur jamur, media kultur bakteri menggunakan media NA (*nutrient agar*) dan NB (*nutrient broth*). Pada setiap penggunaan pelarut pada media disesuaikan dengan asal isolat. Isolat yang berasal dari laut, digunakan air laut steril. Isolat yang berasal dari air tawar, digunakan akuades, untuk komposisi media berdasarkan Stamets (2007).

Pada pembuatan MEA (*malt extract agar*) yaitu dengan komposisi 3 g *malt extract*, 3 g *yeast extract*, 5 g *peptone*, 15 g agar, untuk 1 liter air laut sedangkan untuk media MEB (*malt extract broth*) komposisi pembuatan 17 gr/l dan kloramfenikol yang digunakan 1% dari jumlah pelarut yang digunakan yaitu air laut steril. Semua bahan dilarutkan di dalam erlenmeyer dan dimasukkan *magnetic stirrer* sebagai pengaduk kemudian dihomogenkan menggunakan *hotplate*. Untuk media

MEA miring larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml. Kemudian ditutup dengan buntalan kain kasa yang telah diisi kapas dan dilapisi aluminium foil dan diikat dengan karet gelang, setelah disterilisasi ditunggu hingga mengeras dengan posisi dimiringkan.

Pada media MEB proses sama seperti pembuatan media miring MEA hanya saja tidak perlu dimiringkan karena media dalam betuk cair. Media MEA pada cawan petri disterilisasi terlebih dahulu kemudian dituangkan sekitar 15 ml. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1,05 atm selama 15 menit. Media diinkubasi dalam *cooled incubator* sampai waktunya digunakan. Komposisi untuk membuat media *nutrient agar* atau NA yaitu melarutkan bubuk NA sebanyak 20 gram dalam 1 liter akuades dan untuk pembuatan media *nutrient broth* atau NB dibuat dengan cara melarutkan 8 gram bubuk NB dalam 1 liter akuades. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1,05 atm selama 15 menit.

3.3.3 Isolasi Sampel Daun *Avicennia* sp.

Sampel daun mangrove diisolasi dengan cara memotong bagian daun menggunakan pisau atau *cutter* secara melintang menjadi dua bagian sehingga bagian dalam mangrove bisa dijangkau dan menempel pada media tumbuh. Kemudian potongan tersebut ditanam pada media MEA (*malt extract agar*) di dalam cawan petri. Selanjutnya ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar (25°C) selama 3-4 hari untuk menumbuhkan jamur. Setelah 3-4 hari, akan terlihat pertumbuhan dari jamur di sekitar sampel daun yang telah diletakkan di media MEA (Trianto *et al*, 2019).

3.3.4 Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur

Jamur yang telah diinkubasi dan tumbuh kemudian diidentifikasi berdasarkan morfologinya. Pengamatan morfologi jamur dilakukan secara makroskopis berdasarkan kriteria bentuk permukaan, warna dan ada atau tidaknya hifa. Selanjutnya koloni jamur dengan morfologi berbeda dipisahkan menjadi isolat tersendiri. Isolat jamur diisolasi pada media MEA miring, pada setiap media diberi label

kode isolat dan tanggal dilakukannya isolasi. Kode yang digunakan adalah WB untuk sampel mangrove yang berasal dari Pulau Pasaran dan PJ untuk sampel mangrove yang berasal dari Pagar Jaya. Setelah itu diinkubasi selama 7 hari.

3.3.5 Skrining Aktivitas Daya Hambat Jamur Endosimbion

Proses skrining dilakukan untuk mengetahui isolat jamur endosimbion yang memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen. Isolat jamur endosimbion yang memiliki daya hambat akan digunakan untuk uji lebih lanjut. Bakteri uji *Salmonella typhi* didapatkan dari Laboratorium BKIPM (Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan). Uji daya hambat dilakukan dengan mengambil sebagian miselia jamur endosimbion yang sudah tumbuh menggunakan sedotan steril dan di-pindahkan ke media NA (*nutrient agar*) yang sudah diolesi bakteri uji *Salmonella typhi* kemudian inkubasi kurang lebih selama 1-2 hari hingga terlihat adanya zona hambat (Nawea *et al.*, 2017). Setelah uji dilakukan dan zona hambat terbentuk, kemudian zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran kemudian dicatat dan dikategorikan kemampuan daya hambatnya.

Tabel 4. Kategori diameter zona hambat:

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

Sumber: Muharni *et al.* (2017)

3.3.6 Pengamatan Mikroskopik Jamur Endosimbion Potensial

Jamur endosimbion potensial merupakan jamur hasil skrining aktivitas antibakteri yang memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen. Jamur endosimbion potensial kemudian diamati secara mikroskopis. Pengamatan dilakukan dengan mengambil sedikit miselium kemudian diletakkan kedalam kaca preparat dan teteskan

larutan KOH 3% secukupnya kemudian tutup dengan *cover glass* dan amati morfologi jamur tersebut. Kegunaan KOH untuk menghancurkan sel non jamur sehingga mempermudah untuk mengamati morfologi jamur ketika diamati dengan mikroskop karena larutan KOH merupakan larutan penjernih yang dapat melarutkan protein, lipid, dan melisiskan epitel. Elemen jamur akan bertahan terhadap larutan KOH karena mengandung kitin dan glikoprotein pada dinding sel (Noviandini *et al.*, 2017).

3.3.7 Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endosimbion Daun *Avicennia* sp.

Jamur yang memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen *Salmonella typhi* dipilih. Kemudian, dikultivasi menggunakan media MEB (*malt extract broth*). Kultivasi jamur endosimbion dilakukan dengan menggunakan media MEB, yang bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder dari isolat jamur endosimbion. Koloni jamur endosimbion pada media MEA yang telah dikultur sebelumnya, dipotong diinokulasi ke dalam media MEB selama 21 hari, karena di waktu tersebut jamur berada pada fase stasioner, yaitu fase terjadinya penumpukan hasil metabolisme sekunder (Rendowaty *et al.*, 2017). Jika semua miselia jamur sudah tumbuh dengan jumlah yang cukup banyak dipisahkan antara media dengan jamur endosimbion. Kemudian jamur ditimbang beratnya menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya jamur diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode maserasi (perendaman). Jamur endosimbion direndam menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 (etil asetat: jamur) atau hingga jamur terendam secara merata. Kemudian, diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam. Setelah itu hasil ekstrak disaring dipisahkan dari jamur menggunakan kertas saring. Jamur yang sudah dimaserasi sebelumnya diekstrak kembali dengan cara yang sama. Hasil perendaman kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacum evaporator* bertujuan untuk menguapkan sebagian dari pelarut sehingga didapatkan ekstrak pekat yang konsentrasinya lebih tinggi. Berikut persamaan persentase hasil rendemen :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel jamur}} \times 100\%$$

3.3.8 Uji Aktivitas Daya Hambat Metode Kirby Bauer

Hasil ekstrak jamur endosimbion diuji aktivitas daya hambatnya dengan metode Kirby Bauer. Sebelum dilakukan uji aktivitas daya hambat, terlebih dahulu bakteri uji, yaitu *Salmonella typhi* dikultur dalam media NB selama 2x24 jam dan diukur kepadatan bakteri menggunakan spektrofotometer. Ekstrak yang akan diuji diencerkan dengan pelarut etil asetat dengan konsentrasi 10.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Kemudian masukkan 100 µl bakteri uji pada media NA dalam cawan petri dan ditunggu selama 30 menit hingga bakteri berdifusi. Selanjutnya, masukkan *papper disk* dan teteskan ekstrak pada *papper disk* dengan sebanyak 50 µg/disk dan kontrol positif menggunakan antibakteri kloramfenikol 1% yang dilarutkan dengan akuades steril dengan konsentrasi 50 µg/disk serta kontrol negatif menggunakan pelarut etil asetat steril 50 µl/disk. Dilakukan 2 kali ulangan tiap ekstrak yang diuji. Kemudian cawan petri dibungkus menggunakan plastik wrap dan diinkubasi kurang lebih selama 1-2 hari hingga terlihat zona hambat yang terbentuk dan diukur diameter zona hambatnya menggunakan jangka sorong. Untuk menentukan besar diameter zona hambat menggunakan persamaan sebagai berikut (Harti, 2015):

$$Z = \frac{(Dv-Dc)+(Dh-Dc)}{2}$$

Keterangan :

Z = Zona hambat (mm)

Dv = Diameter vertikal (mm)

Dh = Diameter horizontal (mm)

Dc = Diameter kertas cakram (mm)

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Jamur endosimbion yang di isolasi dari daun mangrove *Avicennia alba* di-
dapatkan 9 isolat berasal dari Way Belau, Kota Karang dan 3 isolat dari Pagar
Jaya, Pesawaran.
2. Ekstrak jamur endosimbion daun *Avicennia* sp. yang memiliki aktivitas anti-
bakteri terhadap *Salmonella typhi* adalah isolate dengan kode WB-D02M, WB-
D05P,-WB-D06P, PJ-D01L, dan PJ-D02P .

5.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut untuk mengetahui spesies dari isolat ja-
mur endosimbion yang berpotensi sebagai antibakteri. Uji yang dapat dilakukan
contohnya identifikasi molekuler dan dilakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui
senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam jamur endosimbion, uji yang
dapat dilakukan contohnya Uji *GCMS* (*gas chromatography and mass spectros-
copy*).

DAFTAR PUSTAKA

- Alhaddad, Z. A., Tanod, W. A., dan Wahyudi, D. 2019. Bioaktivitas antibakteri dari ekstrak daun mangrove *Avicennia* sp. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*. 12(1):12-22.
- Aksornkoe, S. 1993. *Ecology And Management Of Mangroves*. IUCN, Bangkok, Thailand. 351 hlm.
- Bara, R. A., Kandou, G. D., Ola, A. R., dan Posangi, J. 2015. Analisis Senyawa Antibiotik Dari Jamur Simbion yang Terdapat Dalam *Ascidians Didemnum molle* di sekitar Perairan Bunaken-Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 2(2):28-35.
- Cita, Y. P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*. 6(1):42-46.
- Contreras, I., Toro, C.S., Troncoso, G., dan Mora, G.C., 1997. *Salmonella typhi* mutants defective in anaerobic respiration are impaired in their ability to replicate within epithelial cells. *Microbiology Journal (Reading, England)*. 143(8):2665-2672.
- Darminto., Alimuddin, A., dan Dini, I. 2009. Identifikasi senyawa metabolit sekunder potensial menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophyla* dari kulit batang tumbuhan *Avicennia* spp. *Jurnal Chemica*. 10(2):92-98.
- Darmawati, S. 2009. Keanekaragaman genetik *Salmonella typhi*. *Jurnal Kesehatan*. 2(1):27-33.
- Das, Surya S. 2020. Qualitative determination of phytochemical constituents dan antimicrobial activity of the mangrove plant *Avicennia alba* Blume. *International Journal of Research and Analytical Reviews (IJRAR)*. 7(1):627-633.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., dan Rakhmawati, I. 2017. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17(3):197-202.
- Dharmawan, I.W.E., Kawuri, R., dan Parwanayoni, M.S. 2009. Isolasi *Streptomyces* sp. pada Kawasan Hutan Provinsi Bali serta Uji Daya Hambatnya

- terhadap Lima Strain Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi*. 13(1):1-6.
- Egra, S., Mardhiana, M., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., dan Mitsunaga, T. 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor, Jurnal Agroekoteknologi*. 12(1):26-31.
- Frida. S., Nuryani W., Abdul R.Z., Jejen J. H., Hanggar P. K., Fikrul I. 2018. *Panduan Mangrove Estuari Perancak*. Balai Riset dan Observasi Laut. Bali. 50 hlm.
- Hajek, A.E. 2004. *Natural Enemies: an Introduction to Biological Control Properties*. University Press Cambridge. Cambridge. 378 hlm.
- Halidah, H. 2014. *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh jenis mangrove yang kaya manfaat. *Buletin Eboni*. 11(1):37-44.
- Harti, S.A., 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. CV. Dani Offset. Yogyakarta. 273 hlm.
- Hartoyo, E., Yunanto, A., dan Budiarti, L. 2016. Uji sensitivitas *Salmonella typhi* terhadap berbagai antibiotik di bagian anak RSUD Ulin Banjarmasin. *Jurnal Sari Pediatri*. 8(2):118-21.
- Haryati, L. D., Rafika, S., Pratiwi, A. 2018. Isolasi dan identifikasi jamur *Penicillium* sp. yang berasal dari swab pasien ulkus diabetikum. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1):1-6.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., dan Rijai, L. 2015. Isolasi jamur endofit dan produksi metabolit sekunder antioksidan dari daun pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(4):146-153.
- Huang, H., She, Z., Lin, Y., Vrijmoed, L. L. P. dan Lin, W. 2007. Cyclic peptides from an endophytic fungus obtained from a mangrove leaf (*Kandelia candel*). *Journal of Natural Products*. 70(11):1696-1699.
- Ibrahim, Y. M., Dotulong, V., Wonggo, D., Lohoo, H. J., Montolalu, R. I., Makapedua, D. M., dan Sanger, G. 2019. Aktivitas antibakteri infusa daun muda mangrove *Sonneratia alba* kering. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 7(2):52-57.
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Adelberg., G.F. Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20 (Alih bahasa : Nugroho dan R.F. Maulany). Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Kandou, F. E., dan Singkoh, M. F. 2018. Isolasi dan identifikasi jamur endofit pada tumbuhan paku *Asplenium nidus*. *Jurnal MIPA*. 7(2):24-28.
- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowor, O. M., dan Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri jamur endofit daun mangrove *Avicennia marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal e-Biomedik*. 3(1):112-117.
- Kitamura, S., Anwar C., Chaniago, A. dan Baba, S. 1997. *Handbook of Mangroves in Indonesia*. The Development of Sustainable Mangrove Management Project, Ministry of Forestry Indonesia dan Japan International Cooperation Agency. Japan. 118 hlm.
- Kjer, J., Debbab A., Aly A. H., dan Proksch, P. 2010. Methods for isolation of marine derived endophytic fungi dan their bioactive secondary products. *Nature protocols Journal*. 5(3):479-490.
- Krieg, N.R., arte, A., Ludwig, W., Whitman, W.B., dan Hedlund, B.P., Paster. 2011.: *The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Adollicutes), Acidobacteria; Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmaimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia; Chlamydiae, and Plonctomycetes*. Springer. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. USA. 1423 hlm.
- Kusmana, C., Ani, S., Yekti, H., dan Poppy O. 2009. *Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove Api-api (Avicennia spp.) Sebagai Bahan Pangan Dan Obat-Obatan*. Prosiding Seminar Hasil IPB. 158 hlm.
- Leba, M. A. U. 2017. *Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi*. CV. Budi Utama. Yogyakarta. 111 hlm.
- Lestari, Y., dan Puji Ardiningsih, N. 2016. Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) asal pesisir sungai kakap kalimantan barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 5(4):1-8.
- Liwang, F. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endosimbion Akar Bakau *Avicennia marina* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal e-Biomedik*. 2(1):1-7.
- Lozano, M.B, Farias F.G, Acosta, Gasca A.G, Zavala. 1998. Variation of antimicrobial activity of sponge *Aplysina fistularis* (Pallas, 1766) dan its relation to associated fauna. *J. Mar.Biol.Ecol*. 223(1988):1-18.
- Maria T. D., Maria T. L. Ruma, Theresia L., Boro, Kristina M. N. 2019. Identifikasi jenis-jenis mangrove di Kawasan Ekowisata Mangrove Kelurahan Oesapa Barat Kota Kupang. *Jurnal Biotropikal Sains*. 6(3):10-25

- Muharni, M., Fitrya, F., dan Sofa, F. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman obat suku musu di Kabupaten Musi Banyuasin. Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 7(2):127-135.
- Nagababu, P., dan Rao, V. U. 2012. Antibacterial activity dan phytochemical screening of leaves dan stem extracts of *Avicennia alba blume*. *Int J Appl Biol Pharm*. 3(4):399-405.
- Noor, Y. R., Khazali, M., dan Suryadiputra, I. N. N. 2012. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International, Indonesian Programme. Bogor. 228 hlm.
- Nawea, Y., Mangindaan, R., dan Bara, R. 2017. Uji antibakteri jamur endosim-bion dari tumbuhan mangrove *Sonneratia alba* yang tumbuh di Perairan Pantai Tanawangko. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 5(1):24-45.
- Noverita, D. F., dan Sinaga, E. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endosimbion dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4):171-176.
- Novidanini, A., Suyoso, S., dan Astari, L. 2017. Pemeriksaan pewarnaan kalium hidroksida (KOH) 20% tinta parker TM *Blue-Black*, *Chicago Sky Blue* (CSB), dan kultur jamur pada dermatomikosis superfisialis. *Jurnal BIKKK*. 29(1):1-9.
- Novita, W. 2016. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper betle* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans* secara in vitro. *Jambi Medical Journal*. 4(2):140-155.
- Nurhayati, T, D. Aryanti, dan Nurjanah. 2009. Kajian awal potensi ekstrak spons sebagai antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. 2(2):43-51.
- Nurhayati, P. W. 2004. Genus fungi pada tanah hutan mangrove tercemar logam berat di Muara Angke DKI Jakarta. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*. 10(2):14-21.
- Okafor, Nduka. 2007. *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. Science Publisher. New Hampshire. 551 hlm.
- Pelczar, M.J dan Chan E.C.S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R., Imas, T., Tjitrosomo, S., dan Angka, S. UI Press: Jakarta. 443 hlm.
- Pitt, J. I., dan Hocking, A. D. 2009. *Fungi and Food Spoilage* .Vol. 519. New York:Springer. 535 hlm.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta. 220 hlm.

- Purnobasuki, H. 2004. Potensi mangrove sebagai tanaman obat. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 9(2):126.
- Puspayanti, N.M., Dani, T.T., dan Samsurizal, M.S. 2013. Jenis-jenis tumbuhan mangrove di Desa Lebo Kecamatan Parigi Kabupaten Parigi Moutong dan Pengembangannya sebagai media pembelajaran. *Jurnal E Jipbiol*. 1(1):1-9.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3):113-126.
- Rahman, I. 2019. Resistensi antibiotik terhadap salmonella typhi pada penyakit demam tifoid di Kota Makassar. *Kieraha Medical Journal*. 1(2):1-5.
- Rahmania, N., Herpdani, H., dan Rozirwan, R. 2018. Phytochemical test of mangrove *Avicennia alba*, *Rhizophora apiculata* and *Sonneratia alba* from Musi River Estuary, South Sumatera. *Biovalentia: Biological Research Journal*. 4(2):8-15.
- Ramadan, F., Bara, R., Losung, F., Mangindaan, R., Warouw, V., dan Pratasik, S. 2018. Substansi anti bakteri dari jamur endosimbion pada mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 6(1):21-32.
- Rendowaty, A., Djamaan, A., dan Hdanayani, D. 2017. Waktu kultivasi optimal dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat jamur simbiosis *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 4(1):49-54.
- Riset Kesehatan Dasar. 2007. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. Jakarta. 336 hlm.
- Rosyada, A., dan Anwari, M. S. 2018. Pemanfaatan Tumbuhan Mangrove oleh Masyarakat Desa Bakau Besar Laut Kecamatan Sungai Pinyuh Kabupaten Mempawah. *Jurnal Hutan Lestari*. 6(1):62-70.
- Rusila Noor Y., M. Khazali, dan I.N.N. Suryadiputra. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International, Indonesian Programme. PHK/II. Bogor. 228 hlm.
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Deepublish. Yogyakarta. 117 hlm.
- Sarker, S. D., Latif, Z., dan Gray, A. I. 2006. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Humana Press Inc. Totowa (New Jersey). 529 hlm.
- Setiarto, Haryo B. 2020. *Teknologi Pengawetan Pangan Dalam Perspektif Mikrobiologi*. Guepedia. Jawa Barat. 295 hlm.

- Setiawan, D., dan Rakhmawaty, D. 2014. Sintesis dan karakterisasi senyawa 3, 3'-Benzilidena Bis-4-Hidroksi Kumarin untuk sediaan radioterapi. *Chimica et Natura Acta*. 2(3):154-159.
- Siswdanono. 2016. *Kimia Medisinial Edisi 2*. Airlangga University Press. Surabaya. 554 hlm.
- Stanbury, Peter F., Whitaker, Allan., dan Hall, Stephen J. 2003. *Principles of Fermentation Technology Second Edition*. Burlington MA. Elsevier Science. 367 hlm.
- Stamets, P. 2007. *Culture Media For Fungi*. Diakses melalui <http://www.shroomery.org/9468/Culture-Media-for-Fungi>.
- Strobel, G., dan Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4):491-502.
- Strobel, G.A., Daisy, B., Castillo, U., dan Harper, J. 2004. Natural products from endophytic microorganism. *Journal of Natural Products*. 67(2):257-268.
- Strobel, G., Daisy, B., dan Castillo, U. 2005. The biological pro-mise of microbial endophytes dan their natural products. *Plant Pathol Journal*. 4(2):161-176.
- Suliati, R. 2017. Jenis-jenis jamur endofit tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) di Perkebunan Dungun Prapakan Sambas. *Jurnal Protobiont*. 6(3):173-181.
- Tan, R. X. dan Zou, W. X. 2000. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *J. Nat Prod Rep*. 18(4):448-459
- Tetti, Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2):361-367.
- Trianto, A., Nirwani, N., Susanti, O., Maesaroh, D. S., dan Radjasa, O. K. 2019. The bioactivity of bacterium dan fungi living associate with the sponge *Reniera* sp. against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 20(8): 2302-2307.
- Wahyudi, P. 2001. Mikroba endofitik: simbiosis dalam jaringan tanaman. *Lingkungan Manajemen Ilmiah*. 3(2):45-50.
- Wang, X. W., Yang, F. Y., Meijer, M., Kraak, B., Sun, B. D., Jiang, Y. L., dan Houbraken, J. 2019. Redefining humicola sensu stricto dan related genera in The *Chaetomiaceae*. *Studies in mycology*. 93:65-153.

- Wibowo, C., Kusmana, C., Suryani, A., Hartati, Y., dan Oktadiyani, P. 2009. Pemanfaatan jenis pohon mangrove api-api (*Avicennia* spp.) sebagai bahan pangan dan obat-obatan. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB*. Bogor.
- Yani, S., Opik, T., Yuni, K. 2020. *Mikologi*. PT. Freeline Cipta Granesia. Sumatra Barat. 126 hlm.
- Yuniarifin, H, Bintoro V. P., dan Suwarastuti A. 2006. Pengaruh berbagai konsentrasi asam fosfat pada proses perendaman tulang sapi terhadap rendemen, kadar abu dan viskositas gelatin. *Journal Indon Trop Anim Agric*. 31(1):55-61.