

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK JAMUR ENDOFIT AKAR  
MANGROVE *Avicennia* sp. TERHADAP *Vibrio* spp.**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Anggun Novika Putri  
NPM 1714221022**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

## ABSTRACT

### ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT ENDOPHYTIC FUNGI IN ROOT OF MANGROVE *Avicenna* sp. AGAINST *Vibrio* spp.

By

ANGGUN NOVIKA PUTRI

*Vibrio*, a bacteria that causes the vibriosis diseases is a pathogenic bacterial and potentially causing a mass mortality in fish farming. The root of mangrove has been shown to have antibacterial activity. This study aimed to 1) screened isolates of endophytic fungi in root of mangrove that had bioactivity to bacteria that caused the vibriosis diseases, 2) obtained an extract of endophytic fungi in root of mangrove *Avicennia* sp. and knew the ability of this inhibition zone extracts against bacteria that caused the vibriosis diseases, 3) identified endophytic fungi in root of mangrove that had bioactivity to bacteria that caused the vibriosis diseases. This study was conducted using exploratory and experimental laboratory methods. The results of the study obtained 11 isolates of endophytic fungi in root of mangrove *Avicennia alba*. Antibacterial activity test used a dual culture method. However, only 4 isolates of endophytic fungi that had antibacterial activity against bacteria *Vibrio parahaemolyticus* and 3 isolates of endophytic fungi that had antibacterial activity against bacteria *Vibrio harveyi*. Extract test is used Kirby Bauer method. The result of the extract test showed that 3 isolates of endophytic fungi had activity against both of bacterias named WB-A02, WB-A03, and PJ-A03. The result of microscopic identification showed that isolate belonged to the genus *Chrysosporium* (WB-A02), genus *Fusarium* (WB-A03), and genus *Penicillium* (PJ-A03). This research further demonstrates the great potential of endophytic fungi in the development of new antibacterial agent.

Keyword: *Antibacterial, root, endophytic fungi, mangrove, vibriosis.*

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK JAMUR ENDOFIT AKAR MANGROVE *Avicennia* sp. TERHADAP *Vibrio* spp.

Oleh

ANGGUN NOVIKA PUTRI

*Vibrio*, bakteri penyebab vibriosis merupakan bakteri patogen dan berpotensi menyebabkan kematian masal pada organisme perikanan. Akar mangrove terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk 1) skrining isolat jamur endofit akar mangrove yang memiliki bioaktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis, 2) mendapatkan ekstrak jamur endofit akar mangrove *Avicennia* sp. Serta kemampuan zona hambatnya terhadap bakteri penyebab vibriosis, 3) identifikasi jamur endofit akar mangrove yang memiliki bioaktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksploratif dan eksperimental laboratoris. Telah diisolasi 11 isolat jamur endofit dari akar mangrove *Avicennia alba*. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *dual culture* yang dimodifikasi. Terdapat 4 isolat jamur endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan 3 isolat terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. Uji ekstrak menggunakan metode Kirby Bauer. Hasil uji ekstrak didapatkan 3 isolat memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri uji yaitu WB-A02, WB-A03, dan PJ-A03. Secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat yang diidentifikasi masuk ke dalam genus *Chrysosporium* (WB-A02), genus *Fusarium* (WB-A03), dan genus *Penicillium* (PJ-A03).

Kata kunci : Antibakteri, akar, jamur endofit, mangrove, vibriosis.

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK JAMUR  
ENDOFIT AKAR MANGROVE *Avicennia* sp. TERHADAP  
*Vibrio* spp.**

**Oleh**

**Anggun Novika Putri**

**(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 Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Akar Mangrove *Avicennia* sp. terhadap *Vibrio* spp.

Nama Mahasiswa : Anggun Novika Putri

Nomor Pokok Mahasiswi : 1714221022

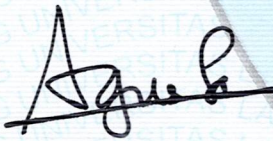
Program Studi : Ilmu Kelautan

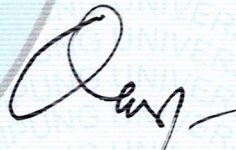
Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian

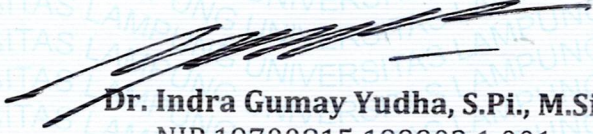


1. Komisi Pembimbing

  
Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.  
NIP 19840805 200912 1 003

  
Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.  
NIP 19881001 201903 2 014

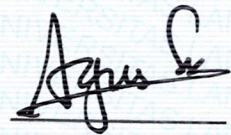
2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

  
Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.  
NIP 19700815 199903 1 001

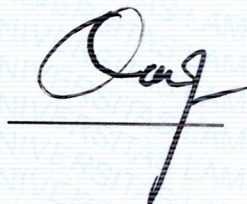
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

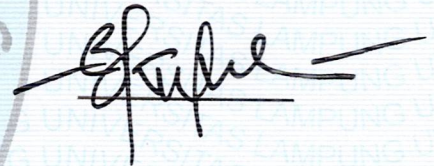
**Ketua : Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**



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




**Anggota : Eko Efendi, S.T., M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP. 19611020 198603 1 002



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 23 Juni 2022**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini.

Nama : Anggun Novika Putri

NPM : 1714221022

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Akar Mangrove  
*Avicennia* sp. terhadap *Vibrio* spp.

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 pembuatan karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 12 Agustus 2022



Anggun Novika Putri  
NPM 1714221022

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Sekampung, Lampung Timur, pada tanggal 18 November 1999, sebagai anak pertama dari 2 bersaudara, dari pasangan Bapak Murdani dan Ibu Sriwidarti. Penulis menempuh pendidikan mulai dari Taman Kanak-Kanak Kartika Jaya II-29 yang diselesaikan pada tahun 2005, pendidikan dasar diselesaikan di SDN 5 Metro Pusat pada tahun 2011, dilanjutkan ke pendidikan menengah pertama di SMPN 6 Metro Utara yang diselesaikan pada tahun 2014, dan pendidikan menengah atas di SMAN 5 Metro yang diselesaikan pada tahun 2017. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang perguruan tinggi melalui jalur SBMPTN di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017.

Selama masa kuliah penulis aktif pada kegiatan organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota pada kepengurusan periode 2018-2019 dan anggota pada kegiatan organisasi Lampung Cerdas pada tahun 2017-2019. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Planktonologi dan Botani Laut pada tahun ajaran 2019/2020. Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Metro Pusat, Kota Metro, Provinsi Lampung selama 40 hari pada bulan Februari-Maret 2021. Penulis juga telah melaksanakan kegiatan Praktik Umum di Laboratorium Budidaya Perikanan, Universitas Lampung dengan judul “Aktivitas Antibakteri Jamur Endosimbion Akar Mangrove *Avicennia* sp. terhadap Bakteri Vibriosis”.



## **PERSEMBAHAN**

### **Bismillahirrohmannirrohim**

Alhamdulillah atas segala nikmat dan berkah, kemudahan, serta izin Allah SWT penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Kepada kedua orang tuaku yang penuh rasa cinta, kasih dan sayang tanpa batas, kupersembahkan imbuhan kecil di belakang namaku untuk kalian.

Orang tuaku tercinta yakni, Ibu Sriwidarti dan Bapak Murdani, yang tiada henti selalu mendoakan dan mendukung yang terbaik untuk penulis dan tak bosan selalu memberikan semangat dan motivasi juga menasehati penulis setiap saat dan memberikan dukungan yang begitu besar kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung dengan lancar.

Adikku tersayang, Bella Sinta Wati, yang selalu memberikan semangat dan dukungannya. Teman-teman seperjuangan Jurusan Perikanan dan Kelautan Angkatan 2017, khususnya kelas Ilmu Kelautan '17 yang sangat saya sayangi, dan teman-teman di luar Universitas Lampung yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang selalu memberikan motivasi, masukan, dukungan dan semangat kepada penulis.

Serta

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

## SANWACANA

Segala puji bagi Tuhan Yang Maha Esa selalu kami panjatkan, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Jamur Endofit Akar Mangrove *Avicennia* sp. terhadap Bakteri Penyebab Vibriosis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dan memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan, bimbingan, serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua orang tua dan keluarga, yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, dorongan, serta telah menjadi motivasi bagi penulis untuk menggapai mimpi.
2. Prof. Dr. 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.
4. Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T. selaku Ketua Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung.
5. Dr. Mahrus Ali, S.Pi., M.P. (Alm.), Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P., dan Ibu Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing, serta Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Pembahas.
6. Teman-teman Jurusan Perikanan dan Kelautan Angkatan 2017 yang selalu memberikan semangat dan dukungan.

Penulis menyadari betul bahwa dalam proses penyusunan skripsi ini terdapat banyak sekali kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Meskipun demikian, dalam segala keterbatasan yang ada terdapat usaha dengan penuh rasa bangga, semangat, dan percaya diri serta niat tulus untuk turut serta dalam membangun literasi, juga informasi, merupakan capaian tak terhingga yang akhirnya terselesaikan. Melalui skripsi ini penulis berharap agar para pembaca dapat menerima informasi dan menambah pengetahuan.

Bandar Lampung, 12 Agustus 2022

Penulis

Anggun Novika Putri

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
1.4 Kerangka Pikir .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Mangrove .....	6
2.2 Senyawa Bioaktif pada Mangrove .....	7
2.3 Potensi Jamur Endofit Mangrove .....	8
2.4 Metode Ekstraksi .....	9
2.5 Bahan Pelarut Ekstraksi .....	10
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri .....	11
2.7 Bakteri Vibriosis .....	12
2.7.1 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	13
2.7.2 <i>Vibrio harveyi</i> .....	14
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat .....	16
3.2 Alat dan bahan .....	16
3.3 Prosedur Penelitian .....	18
3.3.1 Sampling Mangrove .....	18
3.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	19
3.3.3 Isolasi Jamur Endofit Mangrove .....	19
3.3.4 Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur Endofit .....	19
3.3.5 Peremajaan Bakteri Vibriosis .....	20
3.3.6 Uji Antagonis terhadap Bakteri <i>Vibrio</i> .....	20
3.3.7 Kultivasi .....	21
3.3.8 Ekstraksi .....	21
3.3.9 Uji Aktivitas Antibakteri .....	21
3.3.10 Identifikasi Jamur Endofit .....	22
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Identifikasi Mangrove .....	23

4.2 Data Isolat Jamur Endofit .....	24
4.3 Uji Pendahuluan .....	25
4.4 Ekstraksi .....	28
4.5 Uji Ekstrak terhadap Bakteri Penyebab Vibriosis .....	29
4.6 Pengamatan Mikroskopis .....	30
4.6.1 Isolat WB-A02 .....	30
4.6.2 Isolat WB-A03 .....	32
4.6.3 Isolat PJ-A03 .....	34
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	36
5.2 Saran .....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>46</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa bioaktif pada jamur endofit <i>A. marina</i> .....	9
2. Alat yang digunakan .....	16
3. Bahan yang digunakan .....	17
4. Kategori diameter zona hambat .....	20
5. Morfologi isolat jamur endofit .....	24
6. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> .....	26
7. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>V. harveyi</i> .....	27
8. Rendemen ekstrak jamur endofit .....	28
9. Uji ekstrak terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> .....	29
10. Uji ekstrak terhadap <i>V. harveyi</i> .....	30

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian .....	5
2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	14
3. <i>Vibrio harveyi</i> .....	15
4. Diagram alur penelitian.....	18
5. Identifikasi mangrove.....	23
6. Pengamatan mikroskopis isolat WB-A02 .....	31
7. Pengamatan mikroskopis isolat WB-A03 .....	33
8. Pengamatan mikroskopis isolat PJ-A03.....	34
9. Pengambilan sampel akar <i>Avicennia</i> sp.....	46
10. Isolasi dan pemurnian sampel akar .....	46
11. Uji aktivitas antibakteri .....	46
12. Kultivasi isolat jamur endofit akar .....	46
13. Ekstraksi isolat jamur endofit akar.....	46
14. Penyaringan .....	46
15. Evaporasi ekstrak .....	46
16. Pengamatan mikroskopis .....	46
17. Isolat WB-A01 .....	47
18. Isolat WB-A02 .....	47
19. Isolat WB-A03 .....	47
20. Isolat WB-A04 .....	47
21. Isolat WB-A05 .....	47
22. Isolat WB-A06 .....	47
23. Isolat WB-A07 .....	48
24. Isolat PJ-A01 .....	48
25. Isolat PJ-A02 .....	48
26. Isolat PJ-A03 .....	48
27. Isolat PJ-A04 .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi kegiatan.....	5
2. Isolat jamur.....	13



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mangrove merupakan kelompok tumbuhan yang hidup di daerah pantai dan tahan terhadap salinitas (Chandra *et al.*, 2011). Mangrove dapat hidup di daerah tropis dan subtropis. Beberapa jenis mangrove berkembang dengan buah yang sudah berkecambah saat masih di pohon induknya (vivipar) (Noor *et al.*, 2012). Tumbuhan tersebut berasosiasi dengan organisme lain seperti fungi, mikroba, alga, fauna, dan tumbuhan lain, dan berinteraksi pula dengan faktor abiotik seperti iklim, udara, tanah, dan air untuk membentuk ekosistem mangrove (Martuti *et al.*, 2019).

Mangrove tumbuh dan berkembang pada wilayah estuaria dan memiliki adaptasi yang unik untuk menghadapi tekanan lingkungan berupa salinitas tinggi, temperatur tinggi, dan radiasi sinar matahari yang kuat, serta melimpahnya mikroorganisme dan insekta. Tumbuhan yang dapat hidup pada daerah ekstrim seperti ini, tentu memiliki senyawa yang melindunginya dari kerusakan. Berbagai penelitian telah mengungkapkan bahwa mangrove memiliki potensi sebagai antibakteri.

Tumbuhan mangrove diketahui merupakan salah satu sumber senyawa metabolit sekunder, yang aktif sebagai senyawa anti mikroba. Tumbuhan bakau (*mangrove*) sudah sejak lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan obat berkhasiat untuk mengatasi berbagai permasalahan seperti infeksi (Kusmana *et al.*, 2009). Namun pemanfaatan bagian tumbuhan mangrove sebagai bahan obat hanya pada daun dan buah. Beberapa bagian tumbuhan mangrove yang belum dimanfaatkan dan diduga memiliki potensi yang besar ialah akar. Bagian ini adalah bagian yang bertanggung jawab untuk memenuhi kebutuhan nutrisi tumbuhan.

Penggunaan tumbuhan tersebut sebagai bahan obat memungkinkan pada mangrove *Avicennia* sp. terkandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat farmakologis (Soetarno, 2000). Beberapa ilmuwan mengatakan bahwa aktivitas farmakologis dapat berasal dari jamur endofit yang hidup di dalam jaringan tumbuhan (Prihanto, 2012). Menurut Kasi (2015), mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa memberikan efek negatif terhadap inangnya. Mikroba endofit dapat berupa bakteri, jamur, atau mikroba lainnya, namun saat ini yang lebih banyak diteliti adalah jamur-jamur endofit.

Beberapa studi tentang jamur endofit menunjukkan potensi yang menjanjikan terutama di bidang industri farmasi untuk menghasilkan senyawa bioaktif dan penyediaan bahan baku obat (Kumala dan Fitri, 2008). Pemanfaatan jamur endofit dinilai lebih efisien dan konservatif dibandingkan dengan memanfaatkan tumbuhan mangrove secara langsung. Menurut Khalil *et al.* (2021), jamur endofit mangrove *Avicennia* sp. yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa aktif yang bersifat *antibacterial*. Beberapa penelitian membuktikan jamur endofit mangrove *Avicennia* sp. berpeluang besar untuk dijadikan sebagai agen untuk menghasilkan senyawa antibiotik baru (Kumala dan Fitri, 2008 ; Khalil *et al.*, 2021).

Penelitian tentang aktivitas antimikroba dari endofit jamur mangrove masih dapat dikembangkan, khususnya aktivitas endofit mangrove terhadap bakteri *Vibrio* karena penelitian ini belum banyak yang mengkaji. Namun, beberapa penelitian yang mengkaji tentang mangrove, menyebutkan bahwa mangrove memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa aktif untuk menghambat bakteri patogen. Penelitian Liwang *et al.* (2014) menunjukkan bahwa jamur endofit akar *A. marina* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian Widjajanti *et al.* (2015), ekstrak akar *Avicennia alba* dapat menghambat bakteri *Vibrio* sp. pada beberapa konsentrasi. Berdasarkan penelitian Trianto *et al.* (2004), ekstrak dari bagian tumbuhan mangrove terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*.

Hal ini memungkinkan bahwa jamur endofit mangrove *Avicennia* memiliki aktivitas yang sama terhadap bakteri penyebab vibriosis.

Bakteri genus *Vibrio* merupakan bakteri patogen yang dapat dijumpai di perairan laut dan payau. Sarjito *et al.* (2016), menjelaskan bahwa bakteri *Vibrio* merupakan bakteri penyebab vibriosis dan dapat menyebabkan kematian pada kegiatan budi daya udang dan ikan laut. Serangan vibriosis dapat menimbulkan kematian mencapai 100% pada stadia larva atau juvenil (Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP), 2012). Menurut Hatmanti (2003), selain menimbulkan penyakit dan kematian pada biota, bakteri *Vibrio* juga dapat mengontaminasi biota sehingga akan menimbulkan penyakit atau keracunan ketika dikonsumsi. Oleh karena beberapa alasan tersebut, diperlukan suatu penelitian untuk mengatasi permasalahan vibriosis dengan memanfaatkan jamur endofit akar mangrove *Avicennia* sp.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Akar Mangrove *Avicennia* sp. terhadap Bakteri *Vibrio* spp.” yaitu :

1. Skrining isolat jamur endofit akar mangrove yang memiliki bioaktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis.
2. Mendapatkan ekstrak jamur endofit akar mangrove *Avicennia* sp. serta kemampuan zona hambatnya terhadap bakteri penyebab vibriosis.
3. Identifikasi jamur endofit akar mangrove yang memiliki bioaktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini, yaitu diperoleh informasi mengenai potensi antibakteri jamur endofit akar mangrove *Avicennia* sp. dan kemampuan zona hambatnya terhadap bakteri penyebab vibriosis. Isolat jamur endofit akar mangrove potensial dapat menjadi koleksi laboratorium untuk dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

## **1.4 Kerangka Pikir**

Pada bidang budi daya perikanan kendala utama yang susah dikendalikan adalah adanya penyakit ikan. Banyak keluhan dari masyarakat petani ikan maupun

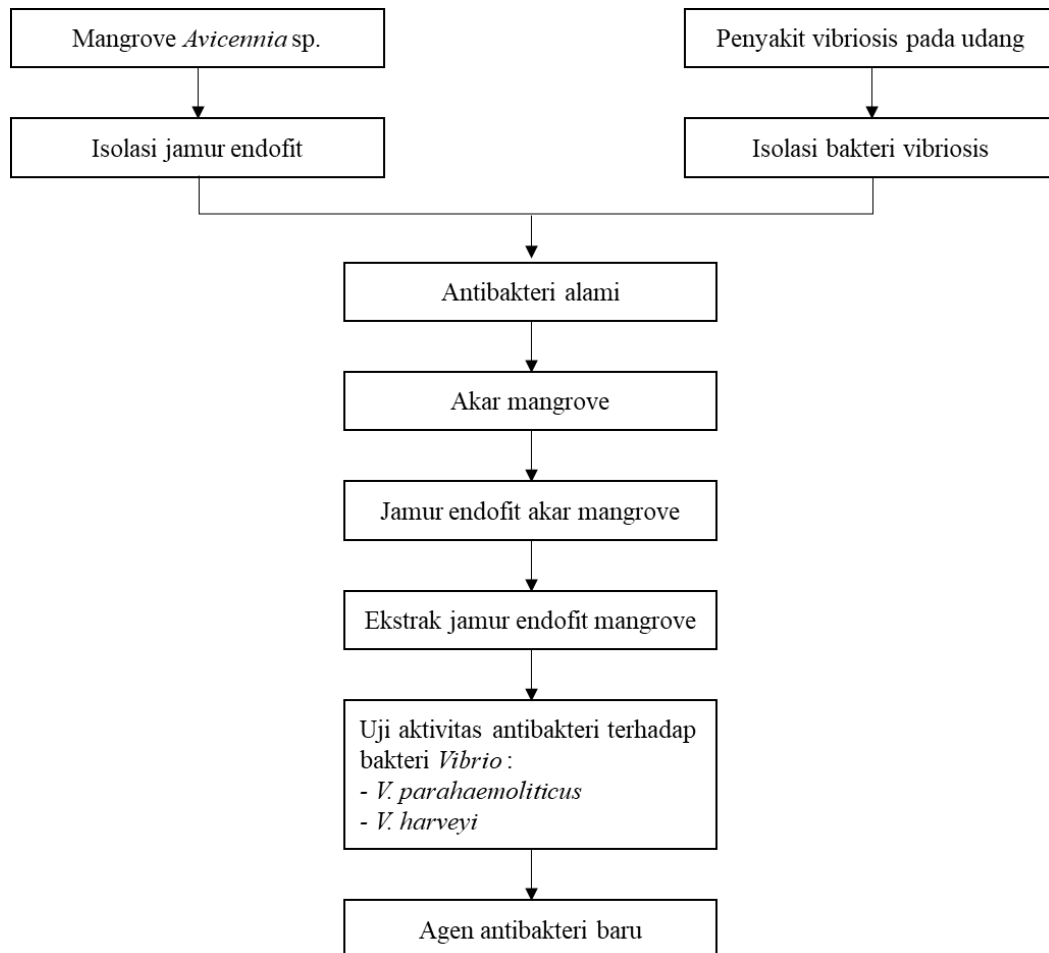
pembudi daya, baik yang berkecimpung pada usaha kolam, karamba dan tambak. Tidak sedikit mereka menutup usahanya karena terjadinya kematian massal pada ikan ataupun udang yang sudah siap panen. Kematian massal tersebut disebabkan oleh vibriosis. Penyakit vibriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* yang dapat menyerang udang dan ikan laut. Beberapa spesies bakteri *Vibrio* yang dapat menyebabkan vibriosis, yaitu *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*.

WHO (2014), menyebutkan bahwa saat ini *multiple antibiotic resistance* (MAR) pada bakteri menjadi perhatian utama dan resistensi menjadi masalah serius yang mengancam sistem pengobatan modern. Hal ini disebabkan mikroorganisme resisten mampu tumbuh pada konsentrasi antibiotik yang biasanya cukup untuk membunuh mikroorganisme tersebut. Menurut Smith (2012), kegagalan *treatment* seringkali terjadi akibat resistensi antibiotik bahkan berpeluang pada kematian.

Rocha *et al.* (2016), melaporkan sebanyak 70 strain *Vibrio* yang berasal dari sampel air dan sedimen di lingkungan tambak udang Brazil resisten terhadap beberapa antibiotik seperti ampisilin (Amp), siprofloksacin (Cip), kloramfenikol (Clo), nitrofurantoin (Nit), gentamisin (Gen), oksitetrasiklin (Otc), tetracycline (Tet), dan streptomisin (Str). Sementara Yano *et al.* (2014) menemukan *V. parahaemolyticus* di lingkungan tambak udang resisten terhadap ampisilin dan oksitetrasiklin (72% dan 3%). Resistensi antibiotik dilaporkan terjadi pada beberapa spesies *Vibrio* di antaranya *V. cholera*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* dan *V. campbelli*.

Resistensi yang terjadi pada bakteri patogen mendorong dilakukannya pencarian agen penghasil senyawa antimikroba yang berpotensi dijadikan sebagai bahan obat baru. Penggunaan ekstrak tanaman mangrove dinilai tidak konservatif. Pemanfaatan jamur endofit mangrove *Avicennia* sp. dapat dilakukan untuk menemukan senyawa baru yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab vibriosis. Selain lebih konservatif, jamur endofit lebih cepat tumbuh dibandingkan

tanaman mangrove tersebut. Oleh karena itu, hal ini merupakan solusi yang cukup efektif untuk mengalihkan pemanfaatan tanaman mangrove ke jamur endofit mangrove. Secara umum kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada diagram alir berikut :



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Mangrove

Kata mangrove berasal dari gabungan bahasa Portugis “mangue” dan bahasa Inggris “grove”. Kata mangrove dalam bahasa Portugis digunakan untuk individu jenis tumbuhan. Kata mangrove dalam bahasa Inggris digunakan untuk komunitas pohon-pohonan atau rumput-rumputan yang tumbuh di kawasan pesisir maupun untuk individu jenis tumbuhan lainnya yang tumbuh dan berasosiasi dengannya (Kustanti, 2011).

Menurut Undang-Undang No. 41 Tahun 1999 tentang Kehutanan, mangrove merupakan vegetasi hutan yang tumbuh di antara garis pasang surut. Habitat mangrove merupakan peralihan antara ekosistem darat dan ekosistem laut sehingga lingkungannya khas. Habitat mangrove bersifat khusus, namun setiap spesies mangrove mempunyai kisaran ekologis tersendiri dan masing-masing spesies mempunyai relung khusus, sehingga berbagai macam zona terbentuk (Jamili *et al.*, 2021).

Nybakken (1998) menyatakan bahwa tidak ada model zonasi mangrove secara universal. Tidak semua mangrove memiliki pola zonasi yang sama untuk seluruh daerah. Habitat mangrove di Indonesia memiliki sifat fisik dan kimia yang berbeda pada setiap daerah, sehingga mempunyai pola zonasi yang berbeda (Jamili *et al.*, 2021). Zonasi pada hutan mangrove dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu frekuensi genangan, salinitas, dominasi jenis tumbuhan, pasang surut dan keterbukaan lokasi hutan mangrove terhadap angin dan hempasan ombak, serta jarak tumbuhan dari garis pantai

Mangrove memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan vegetasi hutan lainnya. Mangrove memiliki jenis pohon yang relatif sedikit dan memiliki perakaran khas untuk beradaptasi terhadap kondisi lingkungannya. Setiap jenis mangrove memiliki perakaran yang berbeda. Salah satu jenis perakaran pada mangrove adalah akar napas. Jenis akar ini berfungsi untuk membantu pertukaran gas dan menyimpan udara untuk pernapasan selama tergenang. *Avicennia* sp. merupakan mangrove yang memiliki jenis akar napas (Kustanti, 2011).

*Avicennia* sp. merupakan tumbuhan semak atau pohon berukuran kecil, tinggi dapat mencapai 30 m, sering kali bengkok, rantingnya hingga 5-10 m, diameter hingga 60-160 cm tanpa banir, tetapi sering dengan akar nafas dan banyak pneumatophor tipis. Pertumbuhan pohon mengikuti model pertumbuhan monopodial. Permukaan kulit kayu halus pecah-pecah, dan berlentisel. Warnanya keabu-abuan atau coklat kemerahan. Bagian dalam kulit *Avicennia* sp. berwarna keputihan dan dapat memproduksi sedikit resin. Ranting pohonnya membesar, daunnya tunggal dan memiliki tepi yang rata, serta sedikit berdaging, seringkali bawahnya putih keabu-abuan, tanpa stipula dan daunnya memiliki kelenjar garam. Reproduksi bersifat kriptovivipari, yaitu biji tumbuh keluar dari kulit biji saat masih menggantung pada tanaman induk, tetapi tidak tumbuh keluar menembus buah sebelum biji jatuh ke tanah.

## **2.2 Senyawa Bioaktif pada Mangrove**

Senyawa bioaktif merupakan suatu senyawa aktif yang termasuk metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan suatu komponen hasil metabolisme yang unik dan terbatas, yang terkadang hanya dijumpai pada kelompok tertentu. Metabolit sekunder berperan dalam interaksi sel organisme dengan lingkungan. Metabolit sekunder menjamin ketahanan hidup organisme pada ekosistem hidupnya (Verpoorte dan Alfermann, 2000).

Jithesh *et al.* (2006), menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan, sehingga sebagian tumbuhan dapat digunakan

sebagai bahan obat. Menurut Mulyani *et al.* (2013), tumbuhan mangrove dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Tumbuhan mangrove dikenal memiliki senyawa bioaktif seperti senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, saponin, tanin, flavonoid, dan quinon dengan berbagai bioaktivitas seperti antimikroba, antifungi, antivirus, dan lain-lain (Usman, 2017).

Khusus untuk jenis api-api (*Avicennia* sp.), masyarakat pesisir di Indonesia sudah sejak lama memanfaatkannya secara tradisional untuk memenuhi kebutuhan pangan : obat-obatan, kayu bakar dan konstruksi bangunan rumah dan pakan ternak (Kusmana *et al.*, 2009). Salah satu yang menjadi sumber antibiotik alami adalah tumbuhan mangrove, yang merupakan kekayaan alam potensial. Mangrove mengandung senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid dan saponin.

### **2.3 Potensi Jamur Endofit Mangrove**

Mikroba endofit akan memproduksi senyawa yang berfungsi untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme yang bersifat patogen. Jaringan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi mikroba endofit agar dapat tetap hidup. Hubungan antara mikroba endofit dan jaringan tumbuhan ini dikenal sebagai hubungan simbiosis mutualisme.

Mikroba endofit dapat berupa bakteri atau jamur. Jamur endofit merupakan jamur yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa memperlihatkan timbulnya penyakit pada tumbuhan tersebut. Jamur endofit memiliki potensi yang besar untuk dieksploitasi dan menghasilkan senyawa-senyawa alami baru yang bermanfaat di bidang medis, pertanian, dan industri.

Penelitian Handayani *et al.* (2019), berhasil mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari jamur *Trichoderma koningiopsis* SaKB1 pada mangrove *Sonneratia alba* Sm. Didapatkan senyawa M1 dan M3 yang memiliki aktivitas terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan hasil pemeriksaan sifat kimia dan fisikokimia, diduga kedua senyawa tersebut adalah senyawa golongan terpenoid. Khalimah



dan Ainy (2019) berhasil mengisolasi jamur endofit dari daun mangrove *Avicennia marina* yang memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*. Isolat yang didapatkan mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin.

Beberapa senyawa yang memiliki aktivitas, teridentifikasi dari ekstrak etil asetat jamur endofit *Chaetomium* sp yang diisolasi dari mangrove *A. marina* pada penelitian Khalil *et al.* (2021) :

Tabel 1. Senyawa bioaktif pada jamur endofit *A. marina*

No.	Senyawa	Aktivitas
1	5-Isopropyl-2-methylbicyclo [3.1.0] hex2-ene	Antioksidan, antimikroba
2	3-Ethyl-3-methylheptane	Antijamur
3	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)	Antimikroba
4	2-Propenal, 3-phenyl	Antimikroba
5	Caryophyllene	Antidepresan
6	Heneicosane	Antimikroba
7	Hexadecane	Antimikroba
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid	Antibakteri
9	n-Hexadecanoic acid	Antioksidan
10	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	Antiinflamasi
11	1,2-Benzenedicarboxylic acid	Antibakteri
12	Bis(2-ethylhexyl) phthalate C	Antijamur

#### 2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu unit operasi yang paling banyak digunakan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang tersimpan pada suatu tanaman dan memiliki fungsi menguntungkan bagi kesehatan manusia (Gani *et al.* 2013). Dalam mengekstrak suatu senyawa, pemilihan metode ekstraksi, jenis pelarut, lama ekstraksi, jumlah dan derajat kehalusan simplisia merupakan faktor yang menentukan terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan. Penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama dengan senyawa yang diekstrak meningkatkan kelarutan. Jumlah pelarut dan ukuran partikel menentukan terhadap besarnya laju transfer masa antara padatan dan larutan (Pinelo *et al.*, 2005).

Berdasarkan Ansel (1985), istilah *maceration* bersal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya “merendam”. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan atau sampel dengan pelarut menggunakan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Menurut Novitasari dan Putri (2016), saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut yang digunakan.

Metode sonikasi merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik dan dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dengan pelarut. Hal ini menyebabkan proses pemindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut lebih cepat (Ashley *et al.*, 2001). Proses ekstraksi dengan bantuan ultrasonik menyebabkan senyawa organik pada sampel dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason, 1990).

Metanol merupakan senyawa kimia dengan rumus  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Metanol merupakan turunan alkohol dengan berat molekul yang rendah dan tidak berwarna. Penelitian yang dilakukan Suryanto dan Wehantouw (2009) menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder, yaitu senyawa fenolik, flavanoid, dan tanin dalam daun *Artocarpus altilis* F. dibandingkan dengan etanol. Penelitian Astarina *et al.* (2013), menunjukkan bahwa metanol dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan glikosida dalam rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.).

## **2.5 Bahan Pelarut Ekstraksi**

Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah metanol. Menurut Salamah dan Widyasari (2015), metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada bahan. Secara umum metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan

dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena hampir dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Ramdani *et al.* (2017) menunjukkan bahwa penggunaan larutan metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi suatu bahan, memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan hasil ekstraksi akuades. Menurut Sayuti (2017) pelarut metanol menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak bambu laut (*Issis hippuris*). Ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen ekstrak kulit manggis yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi yang sama. Pada ekstrak biji barley, rendemen tertinggi diperoleh menggunakan pelarut metanol dibandingkan etanol dan aseton (Liu dan Yao, 2007).

## **2.6 Uji Aktivitas Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme. Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobial, merusak keutuhan dinding sel mikrobial, menghambat sintesis protein sel mikrobial, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobial (Blair *et al.*, 2014).

Menurut Hermawan *et al.* (2008), uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian

lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

## 2.7 Bakteri Vibriosis

Sarjito dan Haditomo (2016), menjelaskan bahwa vibriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* dan dapat menyebabkan kematian pada kegiatan budi daya udang dan ikan laut. Vibriosis merupakan penyakit bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* yang sangat merugikan usaha budi daya ikan di laut karena dalam waktu singkat dapat menimbulkan kematian lebih dari 80% pada karamba jaring apung (Yuasa *et al.* 2000).

Sebagian besar bakteri *Vibrio* adalah bakteri patogen yang mampu menghasilkan enzim proteolitik dan kitinolitik serta bersifat halofilik (Ihsan dan Endah, 2017). Bakteri *Vibrio* dapat bersifat patogen jika sudah mencapai *quorum* yang dibutuhkan untuk mengekspresikan faktor-faktor virulensi yang dapat membunuh ikan dan udang apabila melakukan kontak (Defoirodt *et al.*, 2004). Pola transisi atau penularan bakteri *Vibrio* dapat terjadi secara horizontal melalui air atau kontak antar individu dengan tingkat penularan yang sangat tinggi (Zhou *et al.*, 2012).

Proses infeksi bakteri *Vibrio* diawali proses interaksi dengan pelekatan pada permukaan sel inang, diikuti dengan masuknya bakteri ke dalam sel dan akan terjadi tahap invasi. *Vibrio* akan menyebar secara sistemik dalam tubuh inang. Tahap terakhir yaitu pengeluaran dari tubuh inang, mulai dari tahap pelekatan hingga tahap perusakan inang, *Vibrio* menggunakan faktor virulensi yang mengakitkannya dapat bertahan dalam tubuh inang dan menimbulkan kerusakan (Yanuhar *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian Sarjito *et al.* (2015), gejala klinis yang terdeteksi pada udang sampel yang terserang vibriosis adalah tubuh (carapace) memerah, melanosis pada kulit, nekrosis pada ekor, kaki renang dan kaki jalan memerah serta hepatopankreas memerah cenderung gelap. Berdasarkan KKP (2012), serangan

vibriosis dapat menimbulkan kematian mencapai 100% pada stadia larva atau juvenil. Vibriosis telah dilaporkan menyerang kerapu (Sarjito *et al.*, 2009); udang windu (Sarjito *et al.*, 2012), dan mengakibatkan kematian pada organisme yang dibudidayakan (Austin dan Austin 2007). *Vibrio parahaemolyticus* dan *V. harveyi* ditemukan pada ikan kerapu (Sarjito *et al.*, 2009). Agensia penyebab vibriosis ditemukan pada pemeliharaan udang vaname (*L. vannamei*) di tambak intensif Desa Wonorejo, Kabupaten Kendal di antaranya *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* (Sarjito *et al.*, 2016).

### **2.7.1 *Vibrio parahaemolyticus***

*Vibrio* merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan pada permukaan air laut di seluruh dunia. *Vibrio* sp dapat ditemukan di laut dan perairan dangkal (Jawetz, 2012). *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri halofilik Gram negatif. *V. parahaemolyticus* dapat bergerak atau motil, berbentuk seperti tanda koma, mampu menghasilkan energi yang digunakan untuk pertumbuhan dengan oksidasi, bersifat anaerob fakultatif, tidak bisa membentuk spora, memiliki flagellum kutub tunggal dan bersifat zoonosis. Habitatnya berada pada perairan estuari atau pantai namun tidak dapat hidup di laut dalam (Urquhart *et al.*, 2016).

*Vibrio parahaemolyticus* adalah jenis bakteri yang memiliki daya tahan terhadap salinitas cukup tinggi. *Acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) atau *early mortality syndrome* (EMS) merupakan penyakit yang menginfeksi udang. Penyebaran EMS sangat cepat dan tak terkendali. AHPND adalah penyakit yang disebabkan adanya infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Vp AHPND) yang mampu memproduksi toksin dan menyebabkan kematian pada udang dengan mortalitas mencapai 100%. Kematian akibat AHPND terjadi pada umur kurang dari 40 hari setelah ditebar di tambak. Gejala klinis yang nampak pada udang yang terserang AHPND adalah hepatopankreas pucat dan mengkerut, usus dan lambung kosong (tidak ada pakan) dan warna badan pucat dan kekuningan (Alune, 2020).



Gambar 2. *Vibrio parahaemolyticus*  
Sumber: Yu (2022)

Berikut klasifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menurut Kanagawa (1985) :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

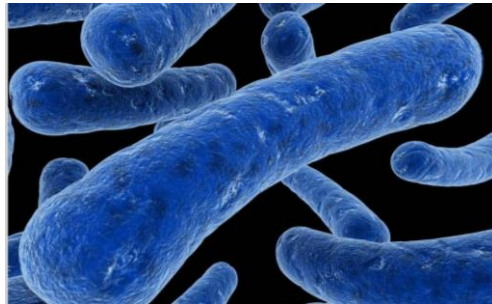
Species : *Vibrio parahaemolyticus*

### 2.7.2 *Vibrio harveyi*

*V. harveyi* adalah bakteri laut Gram negatif dari genus *Vibrio*, mengeluarkan bioluminescens, berbentuk batang, motil dengan flagella polar, bersifat fakultatif anaerob, halofilik dan memiliki metabolisme fermentatif dan respiratori. Bakteri ini bersifat patogen primer dan oportunistik pada hewan laut seperti koral *Gorgonia*, tiram, udang, lobster, ikan snook, barramundi, turbot, bandeng dan kuda laut (Thompson, 2006). *V. harveyi* bersifat oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada di lingkungan pemeliharaan yang bersifat saprofitik dan berkembang menjadi patogenik apabila kondisi lingkungan dan inangnya memburuk (Annisa *et al.*, 2015). Bakteri *V. harveyi* tergolong bakteri mesofil yang memiliki toleransi luas terhadap perubahan suhu (Sarida *et al.*, 2010).

Patogenitas *V. harveyi* bergantung pada konsentrasinya pada waktu tertentu. Lesi mata, gastroenteritis, vaskulitis, dan penyakit kunang-kunang merupakan penyakit

yang disebabkan oleh *V. harveyi*. Vibriosis berendar merupakan penyebab kematian utama khususnya pada budi daya udang (Huang *et al.*, 2013). Infeksi bakteri *V. harveyi* awalnya masuk melalui mulut, membentuk plak, menyebar ke alat gerak, kemudian menyebabkan kehilangan fungsi dan degradasi alat gerak. Infeksi ini dapat menyerang pada fase telur sampai indukan dan banyak menyebabkan kasus kematian pada organisme budi daya sampai 100% (Ortega dan Diaz, 2014).



Gambar 3. *Vibrio harveyi*  
Sumber: Surhone *et al.* (2010)

Menurut Johnson *and* Shunk (1936), klasifikasi *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio harveyi*

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret - Desember 2021 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Berikut adalah daftar alat dan bahan yang digunakan selama penelitian:

Tabel 2. Alat yang digunakan

Alat	Keterangan / fungsi
Autoklaf	Sterilisasi alat dan bahan.
Bunsen	Sterilisasi di dalam <i>laminar airflow</i> .
Cawan petri	Wadah media tumbuh mikroba.
<i>Coolbox</i>	Alat penyimpanan sampling.
<i>Coolpack</i>	Alat pendingin pada <i>coolbox</i> .
<i>Erlenmeyer</i>	Alat untuk membuat media.
Gelas ukur	Untuk mengukur pelarut saat membuat media.
<i>Hot plate</i>	Untuk menghomogenkan media.
Inkubator	Menginkubasi mikroba dengan suhu terkontrol.
Jangka sorong	Untuk mengukur zona bening.
Jarum ose	Untuk menginokulasi mikroba.
Jas lab, masker, sarung tangan	Alat pelindung dan menjaga tubuh tetap steril.
Kamera ponsel	Dokumentasi.
<i>Laminar airflow</i>	Melakukan kegiatan penelitian, menghindari kontaminasi.
Laptop	Mencatat dan mengolah data hasil uji.



Tabel 2. Alat yang digunakan (lanjutan)

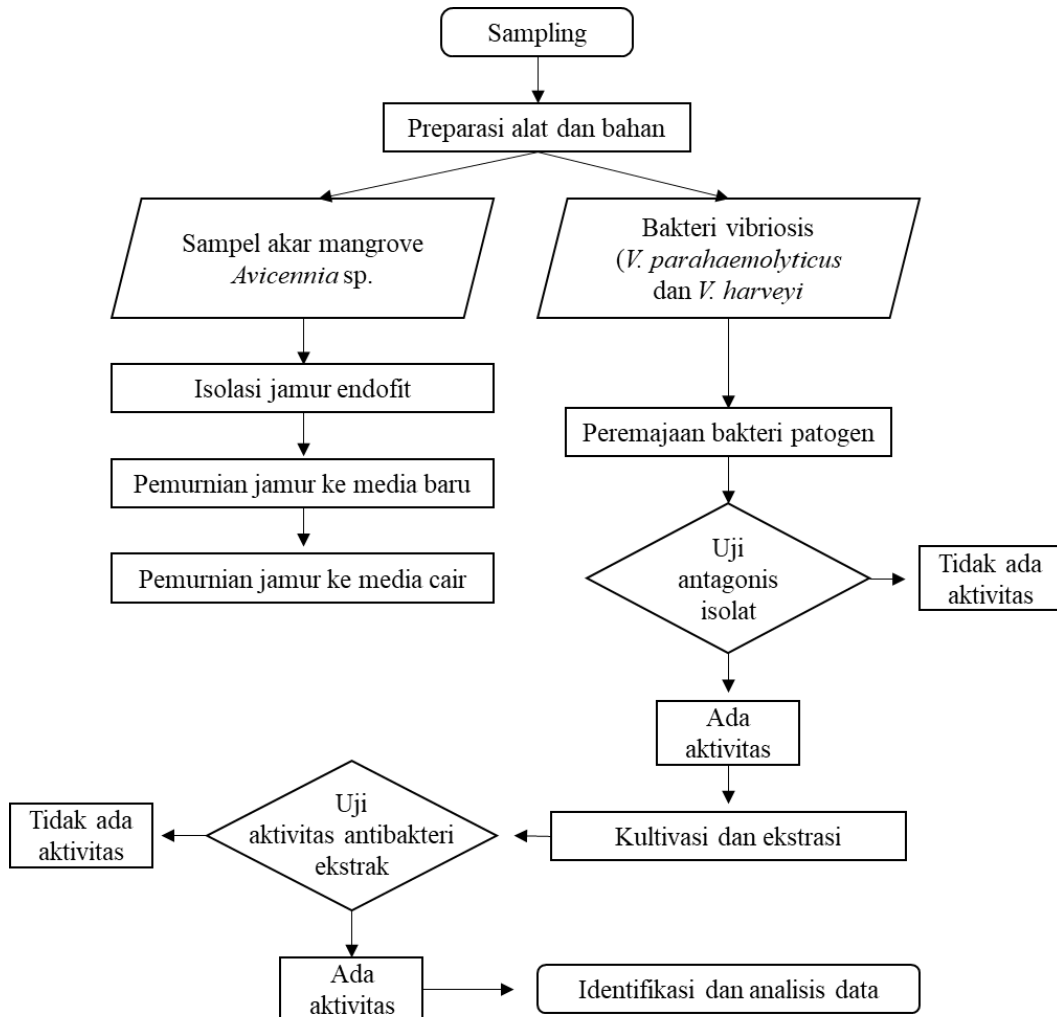
<b>Alat</b>	<b>Keterangan/fungsi</b>
Lemari Pendingin	Menyimpan media kosong.
<i>Log book</i>	Untuk mencatat data mikroba.
Pinset	Untuk mengambil dan meletakkan kertas cakram.
Pipet tetes	Untuk mengambil larutan.
Pisau/ <i>Cutter</i>	Untuk memotong, menyayat sampel.
<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk evaporasi ekstrak jamur.
<i>Shacker</i>	Untuk mencegah penggumpalan bakteri patogen.
Spidol	Mencatat data.
Tabung reaksi	Wadah media tumbuh isolat dan bakteri patogen.
Timbangan digital	Untuk menimbang media.

Tabel 3. Bahan yang digunakan

<b>Bahan</b>	<b>Keterangan / fungsi</b>
Aquades	Sebagai pelarut media, untuk sterilisasi pada autoklaf.
Air laut steril	Sebagai pelarut media, untuk sterilisasi pada autoklaf.
Alkohol	Disinfektan, sterilisasi alat dan diri.
<i>Aluminium foil</i>	Untuk membungkus alat.
<i>Chloramphenicol</i>	Sebagai kontrol +, menghindari kontaminasi media.
Kain kasa	Untuk membuat penutup tabung reaksi, dan <i>erlenmeyer</i> .
Karet gelang	Untuk merekatkan penutup dan mencegah udara masuk.
MEA ( <i>malt extract agar</i> )	Media tumbuh jamur (padat).
MEB ( <i>malt extract broth</i> )	Media tumbuh jamur (cair).
<i>Nystatin</i> 100.000 IU	Sebagai kontrol -, mencegah kontaminasi oleh jamur.
<i>Papper disk</i>	Untuk uji antagonis terhadap bakteri patogen.
Plastik tahan panas	Membungkus alat dan bahan saat sterilisasi.
Plastik <i>wrap</i>	Membungkus cawan petri.
Zobell	Media tumbuh bakteri potensial dan patogen.
Metanol	Pelarut (polar) sebagai pelarut dalam proses ekstraksi.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian berdasarkan Maisaroh (2014), yang dimodifikasi. Prosedur pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Diagram alur penelitian

#### 3.3.1 Sampling Mangrove

Sampel mangrove diambil dari Way Belau, Kota Karang, Teluk Betung, Bandar Lampung dan Dusun Kucing Riang, Desa Pagar Jaya, Kecamatan Punduh Pidada, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Penelitian dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung.

Jenis mangrove yang diambil adalah mangrove *Avicennia* sp. Bagian mangrove yang diambil adalah bagian akarnya. Sampel akar mangrove *Avicennia* sp. diambil kemudian dibersihkan menggunakan air laut steril. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam plastik zip dan disimpan di dalam *coolbox* kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi.

### **3.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang akan digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu. Ada tiga macam sterilisasi yang digunakan, yaitu sterilisasi basah, sterilisasi kering, dan sterilisasi dengan bahan kimia yaitu alkohol 70%. Alat-alat seperti cawan petri, tabung reaksi, dan erlenmeyer disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Bahan-bahan seperti kertas saring, Zobell, *malt extract broth* (MEB), dan *malt extract agar* (MEA) disterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sampel mangrove disterilisasi menggunakan alkohol 70%.

### **3.3.3 Isolasi Jamur Endofit Mangrove**

Sampel akar mangrove *Avicennia* sp. dikeluarkan dari dalam *coolbox* kemudian dilakukan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 30 detik sebanyak 2 kali. Tujuan dari perendaman adalah untuk membersihkan akar mangrove dari mikroba yang berasal dari bagian permukaan sampel. Isolasi dilakukan dengan cara menyayat akar mangrove dengan sayatan melintang menggunakan *cutter*, kemudian diambil bagian dalamnya. Hasil potongan sampel diambil menggunakan pinset dan diletakkan di cawan yang telah berisi media MEA. Kemudian cawan dibungkus menggunakan bungkus plastik. Setelah itu diinkubasi selama 3-7 hari.

### **3.3.4 Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur Endofit**

Jamur endofit yang telah diinkubasi dan tumbuh diidentifikasi berdasarkan morfologinya. Kemudian jamur endofit ditandai dan diberi kode. Kode yang digunakan adalah WB untuk sampel mangrove dari Way Belau dan PJ untuk sampel mangrove dari Pagar Jaya. Jamur endofit yang telah ditandai,

dipisahkan dari cawan petri yang masih bercampur dengan jamur lainnya ke media MEA miring. Setelah itu diinkubasi selama 3-7 hari.

### 3.3.5 Peremajaan Bakteri Vibriosis

Peremajaan bakteri dilakukan sehari sebelum uji antagonis. Bakteri yang diremajakan yaitu bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*. Peremajaan dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari media sebelumnya menggunakan jarum ose. Kemudian bakteri dipindahkan ke media baru, yaitu media Zobell cair. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam.

### 3.3.6 Uji Antagonis Terhadap Bakteri *Vibrio*

Metode yang digunakan untuk uji antagonis adalah metode *dual culture* yang dimodifikasi mengacu pada Ainy (2015). Metode ini merupakan metode yang dapat menjadi opsi dalam penelitian karena mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Pada metode ini, jamur endofit ditumbuhkan pada media MEA selama 3-7 hari dan bakteri uji ditumbuhkan pada media Zobell cair sebelum dilakukan uji antagonis dan diamati hingga kepadatan  $10^6$ . Bakteri uji yang telah tumbuh, dituang sebanyak 100  $\mu$ l ke dalam cawan berisi media padat dan didiamkan selama 5 menit sampai mengering. Jamur yang telah tumbuh dipotong dan diambil sebagian kecil untuk kemudian diletakkan pada cawan berisi bakteri patogen. Cawan uji diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap zona hambat.

Setelah uji dilakukan dan zona hambat terbentuk, kemudian zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran kemudian dicatat. Susanto *et al.* (2012) mengategorikan zona hambat seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Kategori diameter zona hambat

Diameter	Kekuatan zona hambat
$\leq 5$ mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
$\geq 21$ mm	Sangat kuat

Sumber: Susanto *et al.* (2012)

### 3.3.7 Kultivasi

Jamur endofit yang memiliki aktivitas terhadap bakteri vibriosis dipilih untuk kemudian dilakukan kultivasi. Kultivasi jamur endofit dilakukan secara kultur diam (statis) dalam media cair MEB di dalam botol kaca berukuran 500 ml. Kultivasi dilakukan selama 14 hari. Jamur endofit yang telah dikultivasi dan tidak terjadi kontaminasi, kemudian dipanen untuk memisahkan antara jamur endofit dan media.

### 3.3.8 Ekstraksi

Jamur endofit yang telah dipanen, diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi (perendaman) dengan perbandingan 1 (jamur endofit) : 10 (pelarut). Jamur endofit yang telah direndam dengan metanol, kemudian disonikasi menggunakan sonikator agar terekstraksi lebih maksimal. Rendaman selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Perendaman dan penyaringan dilakukan secara berulang sampai ekstrak pada miselium benar-benar terlarut. Hasil ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kasar untuk selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio*.

### 3.3.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak yang telah didapat dilarutkan menggunakan akuades dengan konsentrasi 10.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm. Ekstrak kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode Kirby Bauer atau difusi kertas cakram. Bakteri uji diratakan ke dalam cawan menggunakan *spreader*. Kertas cakram ditetesi ekstrak yang sudah tersedia dengan konsentrasi 10.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm menggunakan mikropipet sebanyak 20 µl. Kertas cakram lainnya diisi kontrol positif dan negatif. Kontrol positif menggunakan larutan *Chloramfenicol* dengan kadar 1%.

Dilakukan inkubasi selama 1-3 hari untuk melihat ada atau tidaknya zona hambat. Apabila sampel uji menghambat pertumbuhan bakteri, maka akan terlihat

daerah bening (zona hambat) di sekitar sumur. Kemudian diukur diameter zona hambat (mm) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Ekstrak jamur endofit yang memiliki aktivitas akan diamati secara mikroskopis.

#### **3.3.10 Identifikasi Jamur Endofit**

Jamur endofit potensial diidentifikasi secara mikroskopis. Jamur endofit diamati bentuk, warna, miselium, dan spora menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x. Selanjutnya dibandingkan dengan data pada buku acuan Pitt dan Hocking (2009). Jamur endofit ditumbuhkan pada media MEA dan diinkubasi selama 3 hari. Setelah jamur endofit tumbuh, disiapkan kaca preparat dan disterilisasi menggunakan alkohol. Kaca preparat ditetaskan dengan KOH (kalium hidroksida) 3%. Setelah itu jamur endofit digoreskan pada kaca preparat menggunakan jarum ose dan ditutup menggunakan *cover glass*. Jamur kemudian diamati menggunakan mikroskop dan didokumentasikan.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu :

1. Didapatkan 3 isolat jamur endofit akar mangrove yang memiliki aktivitas terhadap bakteri vibriosis. 2 isolat berasal dari perairan Way Belau dengan kode WB-A02 dan WB-A03. Isolat lainnya berasal dari perairan Pagar Jaya dengan kode PJ-A03.
2. Ketiga ekstrak dari isolat WB-A02, WB-A03, dan PJ-A03 memiliki zona hambat terhadap bakteri vibriosis. Zona hambat terbesar terhadap *V. parahaemolyticus* yaitu isolat WB-A03. Isolat yang memiliki konsistensi zona hambat terhadap *V. harveyi* pada konsentrasi 10.000 ppm, 1.000 ppm, dan 100 ppm adalah isolat WB-A03.
3. Isolat jamur endofit yang memiliki bioaktivitas terhadap bakteri vibriosis, yaitu isolat WB-A02 merupakan genus *Chrysosporium*, WB-A03 merupakan genus *Fusarium*, dan isolat PJ-A03 merupakan genus *Penicilium*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan jamur endofit yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *Vibrio*. Penelitian dapat dilanjutkan dengan identifikasi molekuler agar dapat mengetahui spesies jamur dan identifikasi senyawa aktif yang terdapat pada jamur, yaitu menggunakan metode GCMS (*gas chromatography and mass spectroscopy*).

## **DAFTAR PUSTAKA**



## DAFTAR PUSTAKA

- Ainy, E. Q., Ratnayani, R., dan Susilawati, L. 2015. Uji aktivitas antagonis *Trichoderma harzianum* 11035 terhadap *Colletotrichum capsici* TCKR2 dan *Colletotrichum acutatum* TCK1 penyebab antraknosa pada tanaman cabai. *Prosiding Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*. 12(1):892-897.
- Alune. 2020. Yang perlu anda ketahui tentang EMS/AHPND dalam budi daya udang. The Fish Site. <https://thefishsite.com/articles/yang-perlu-anda-ketahui-tentang-ems-ahpnd-dalam-budi-daya-udang>. Diakses pada 28 Juli 2022.
- Annisa, N., Sarjito, dan Prayitno, S. B. 2015. Pengaruh perendaman ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap gejala klinis, kelulushidupan, histologi dan pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 4(3):54-60.
- Ansel. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi Keempat*. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 662 hlm.
- Ashley, K., Andrews, R. N., Cavazos, L., dan Demange, M. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Journal of Analysis Atomic Spectrometry*. 16(10):1447-1153.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4):1-7.
- Austin, B. dan Austin, D.A. 2007. *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*. Springer. Dordrecht. 552 hlm.
- Barakat, F., Vansteelandt, M., Triastuti, A., Jargeat, P., Jacquemin, D., Graton, J., Mejia, K., Cabanillas, B., Vendier, L., Stigliani, J. L., Haddad, M., dan Fabre, N. 2019. Thiodiketopiperazines with two spirocyclic centers extracted from *Botryosphaeria mamane*, an endophytic fungus isolated from *Bixa orellana* L. *Phytochemistry*. 158:142-148.

- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., dan Piddock, L. J. V. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 13(1):42-51.
- Chandra, I.A., G. Seca, dan A.M.K. Hena, 2011. Aboveground biomass production of *Rhizophora apiculata* blume in Sarawak Mangrove Forest. *Agricultural and Biological Sciences*. 6(4):469-474.
- Christensen, B., Thykaer, J., dan Nielsen, J. 2000. Metabolic characterization of high-and low-yielding strains of *Penicillium chrysogenum*. *Applied Microbiology Biotechnology*. 54(2):212-217.
- Correa, Y., Cabanillas, B., Jullian, V., Alvarez, D., Castillo, D., Dufloer, C., Bustamante, B., Roncal, E., Neyra, E., Sheen, P., dan Sauvain, M. 2019. Bioactive compounds from *Chrysosporium multifidum*, a fungus isolated from *Hermetia illucens* gut microbiota. *Plos One*. 14(12):1-10.
- Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. FMIPA Universitas Andalas. Padang. 59 hlm.
- Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P., dan Verstraete, W. 2004. Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture*. 240(1-4):69-88.
- Firdaus, M., Prihanto, A.A., dan Nurdiani, R. 2010. *Potensi Jamur Endofit Asal Mangrove Sebagai Anti Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan Anti Vancomycin Resistant Enterococcus faecium (VREF)*. Laporan Hasil Penelitian Hibah Penelitian dalam Peningkatan Publikasi Ilmiah Internasional Program World Class University. Universitas Brawijaya. Malang.
- Gani, M., Cuaca, Y., Ayucitra, A. dan Indraswati, N. 2013. Ekstraksi senyawa fenolik antioksidan dari daun dan tangkai gambir. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 11(5):250- 256.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 490 hlm.
- Handayani, D., Pratiwi, E. M. I., dan Fajrina, A. 2019. senyawa antimikroba dari jamur endofit *Trichoderma koningiopsis* SaKB1 yang diisolasi dari tanaman mangrove *Sonneratia alba* Sm. *Sains Farmasi dan Klinis*. 6(2):78–84.
- 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.

- Hatmanti, A. 2003. Penyakit bakterial pada budi daya krustasea serta cara penanganannya. *Oseana*. 28(3):1-10.
- Hermawan, A., Eliyani, H., dan Tyasningsih, W. 2008. Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk. *Veterinaria Medika*. 1(1):67-72.
- Hirano, N., Kohno, J., Tsunoda, S., Nishio, M., Kishi, N., dan Okuda, T. 2001. TMC-69, a new antitumor antibiotic with Cdc25A inhibitory activity, produce by *Chrysosporium* sp. TC1068. *Journal of Antibiotics*. 54(5):421-427.
- Hoshino, Y., Ivanova, V. B., Yazawa, K., Ando, A., dan Mikami, Y. 2002. Queenslandon, a new antifungal compound produced by *Chrysosporium queenslandicum*: production, isolation, and structure elucidation. *Journal of Antibiotics*. 55(5):516-519.
- Huang, H. H., Liu, X. L., Xiang, J. H., dan Wang, P. 2013. Immune response of *Litopenaeus vannamei* after infection with *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*. 406-407:115-120.
- Huang, Z., Yang, J., She, Z., dan Lin, Y. 2010. Isoflavones from the mangrove endophytic fungus *Fusarium* sp. (ZZF41). *Natural Product Communications*. 5(11):1771-1773.
- Ihsan, B. dan Retnaningrum, E. 2017. Isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* sp. pada kerang kapah (*Meretrix meretrix*) di Kabupaten Trenggalek. *Jurnal Harpodon Borneo*. 10(1):23-27.
- Jamili, Setiadi, D., Qayim, I., dan Guhardja, E. 2021. *Mangrove Karakteristik ekosistemnya pada Pulau-Pulau Kecil*. Nasya Expanding Management (NEM). Pekalongan. 168 hlm.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. EGC. Jakarta. 854 hlm.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H.L., Zheng, C.J., Rahman, K., Han, T., dan Qin, L.P., 2016. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*. 7(906):1-14.
- Jithesh, M. N., Prasanth S. R., Silvaprakash, K. R., dan Parida, A. 2006. Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant gray mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Reports*. 25(8):865-876.
- Johnson, F.H. dan Shunk, I.V. 1936. An interesting new species of luminous bacteria. *Journal of Bacteriology*. 31(6):585-592.

- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowor, M., dan Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri jamur endofit daun mangrove *Avicennia marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Journal Biomedik Unsrat* 3(1):112-117.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2012. Standar Nasional Indonesia (SNI) Budi Daya Air Payau dan Laut. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. 179 hlm.
- Khalil, A.M.A., Abdelaziz, A.M., Khaleil, M.M., dan Hashem, A.H. 2021. Fungal endophytes from leaves of *Avicennia marina* growing in semi-arid environment as a promising source for bioactive compounds. *Letters in Applied Microbiology*. 72(3):263-274.
- Khalimah, D., dan Ainy, E. Q. 2019. Isolasi fungi endofit daun mangrove *Avicennia marina* dan uji aktivitasnya sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* ATCC. *Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education)*. 2:298-305.
- Kumala, S. dan Fitri, N.A. 2008. Penapisan kapang endofit ranting kayu meranti merah (*Shorea balangeran* Korth.) sebagai penghasil enzim xilanase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6(1):1-6.
- Kusmana, C. 2009. Ani. S, Yekti. H, Poppy. O. *Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove Api-Api (Avicennia sp.) sebagai Bahan Pangan dan Obat-Obatan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 159 hlm.
- Kusmiyati dan Agustini, N. W. S. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. 8(1):48-53.
- Kustanti, A. 2011. *Manajemen Hutan Mangrove*. IPB Press. Bogor. 148 hlm.
- Liu, Q dan H. Yao. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extract. *Food Chemistry*. 102(3):732-737.
- Liwang, F., Bara, R., Awaloei, H., dan Wuisan, J. 2014. Uji aktivitas antibakteri jamur endofit akar bakau *Avicennia marina* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *E-Biomedik*. 2(1):1-7.
- Maisaroh, D.S. 2014. *Skrining Potensi Antibakteri dari Spons Koleksi Perairan Maluku terhadap Bakteri MDR (Multi Drug Resistant)*. (Tesis). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang. 97 hlm.
- Mardina, V. 2022. Isolasi fungi endofit pada tumbuhan (*Rhizophora apiculata* Blume) di Kuala Langsa, Aceh. *Konservasi Hayati*. 18(1):26-30.

- Martuti, N. K T., Setyowati, D. L., dan Nugraha, S. B. 2019. *Ekosistem Mangrove (Keanekaragaman, Fitoremediasi, Stok Karbon, Peran dan Pengelolaan)*. Project Report. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat UNNES. Semarang. 101 hlm.
- Mason, T. J. 1990. *Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry Volume 1*. Royal Society of Chemistry. Cambridge. 157 hlm.
- Mousa, W. K., dan Raizada, M. N. 2013. The diversity of antimicrobial secondary metabolites produced by fungal endophytes: an interdisciplinary perspective. *Frontiers in Microbiology*. 4(65):1-18.
- Mulyani, Y., Bachtiar E., A. dan Kurnia M.U. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Akuatika*. 4(1):1-9.
- Newbert, RW., Barton, B., Greaves, P., Harper, J., dan Turner. G. 1997. Analysis of a commercially improved *Penicillium chrysogenum* strain series: involvement of recombinogenic regions in amplification and deletion of the penicillin biosynthesis gene cluster. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*. 19(1):18-27.
- Noor, Y.R., Khazali, M., dan Suryadiputra, I.N.N. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International. Bogor. 227 hlm.
- Nopriyanti, H. T., dan Agustriani, F. 2016. Skrining *Nypa fruticans* sebagai antibakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Maspari Journal : Marine Science Research*. 8(2):83-90.
- Novitasari, A.E., dan Putri, D.Z. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12):10-14.
- Nurhidayah, Hasanah, U., dan Idramsa. 2014. Pengaruh ekstrak metabolit sekunder jamur endofit tumbuhan *Cotylelobium melanoxyylon* dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya*. Universitas Negeri Medan. Medan. Hlm. 308-317.
- Nybakken, J. W. 1988. *Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis*. Gramedia. Jakarta. 480 hlm.
- Ogawa, H., Hasumi, K., dan Sakai, K. 1991. Pannorin : a new 3 hydroxy 3 methyl glutaryl co enzyme, a reductase inhibitors. *Journal of Antibiotics*. 44(7):762-767.

- Ortega, C. O. L. dan Diaz, S. F. M. 2014. Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Aquaculture*. 434:208-211.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Pinelo, M., Fabbro, P.Del., Manzocco, Lara., Nicoli, M.J.N., dan Cristina, M. 2005. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* by products. *Food Chemistry*. 92(1):109–117.
- Pitt, J.I. dan Hocking, A.D. 2009. *Fungi and Food Spoilage Third Edition*. Springer US. New York. 520 hlm.
- Podungge, F., Purwaningsih, S., dan Nurhayati, T. 2015. Karakteristik buah bakau hitam sebagai sediaan ekstrak sumber antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(2):140-149.
- Poole, K. 2007. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Annals of Medicine*. 39(3):162-176.
- Prihanto, A. A. 2012. Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicilium notatum* ATCC 28089 dengan *Penicilium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(1):66-70.
- Putri, R. R., Hasanah, R., dan Kusimaningrum, I. 2016. Uji aktivitas antibakteri dan uji fitokimia ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Aquawarman*. 2(1):43-50.
- Ramdani, D., Marjuki, dan Chuzaemi, S. 2017. Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas *in-vitro*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27(2):54-62.
- Rayamajhi, N., Cha, S.B., dan Yoo, H.S. 2000. Antibiotics resistances: past, present and future. *Journal of Biomedical Resistances*. 11(2):65-80.
- Rocha, R. S., Sousa, O. V., dan Vieira, R. H. 2016. Multidrug-resistant *Vibrio* Asso-ciated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. 105(1):337-340.
- Rumengan, A.P dan Mangindaan, R.E.P. 2013. Telaah sitotoksik dari ekstrak karang lunak *Nephtea* sp. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 3(1):24-30.
- Salamah, N. dan Widyasari, E. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan

- radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil penangkapan radikal. *Pharmaciana*. 5(1):25-34.
- Sari, D. K. 2008. *Penapisan Antibakteri dan Inhibitor Topoisomerase I dari Xylocarpus granatum*. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 73 hlm.
- Sari, N. K. Y., Kawuri, R., dan Parwanayoni, N. M. S. 2020. Aktivitas antibakteri fungi endofit dari rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* var. Roscoe) terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Biological Sciences*. 7(2):220-228.
- Sarida, M., T. Tarsim., dan Faizal, I. 2010. pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian Sains*. 13(3):59-63.
- Sarjito, S., Apriliani, M., dan Haditomo, A.H.C. 2016. Keanekaragaman agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1):98-107.
- Sarjito, S. Haditomo, A. H. C., dan Prayitno, S. B. 2015. Causative agent vibriosis pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di kolam bersalinitas rendah. *Prosiding Seminar Nasional Tahunan ke-IV Hasil-Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan Tahun 2014*. FPIK Universitas Diponegoro, Semarang. Hlm. 173-183.
- Sarjito, S., Ningrum, N.E.W., Radjasa, O.K., dan Prayitno, S.B., 2012. Application of repetitive sequence base pcr on the richness of *Vibrio* on the tiger shrimps (*Penaeus monodon* F.) . *Journal of Coastal Development*. 15(3):304-310.
- Sarjito, S., Radjasa, O. K., Sabdono, A., dan Prayitno, S. B. 2009. Phylogenetic diversity of the causative agents of vibriosis associated with groupers fish from Karimunjawa Islands, Indonesia. *Current Research in Bacteriology*. 2(1):14-21.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, bagian dan jenis pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan bambu laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*. 1(3):166-174.
- Silva F. V. dan Gibs, P. 2004. Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44(5):353-360.
- Smith, R. D. dan Coast, J. 2012. *The Economic Burden Of Antimicrobial Resistance : Why It Is More Serious Than Current Studies Suggest*. Technical Report. London School of Hygiene & Tropical Medicine. London. 38 hlm.

- Sondergaard, T. E., Fredborg, M., dan Christensen, A. M. O., Damsgaard, S. K., Kramer, N. F., Giese, H., dan Sorensen, J. L. 2016. Fast screening of anti-bacterial compounds from fusaria. *Toxins*. 8(12):355.
- Soetarno, S. 2000. Potential and benefits of mangrove plants as source of bioactive compounds. *Jurnal Acta Pharmaceutica Indonesia*. 12(4):84-103.
- Strobel, G. dan Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4):491-502.
- Sunyoto P. 1994. *Pembesaran Ikan Kerapu dengan Jaring Apung*. Penebar Swadaya. Jakarta. 65 hlm.
- Surhone, L. M., Tennoe, M. T., dan Henssonow, S. F. 2010. *Vibrio Harveyi*. Beta-script Publishing. Beau Bassin. 68 hlm.
- Suryanto, E. dan Wehantouw, F. 2009. Aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chemistry Progress*. 2(1):1-7.
- Susanto, D., Sudrajat, dan R. Ruga. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*. 11(2):181-190.
- Thompson, F.L., Austin, B., dan Swings, J. 2006. *The Biology of Vibriosis*. ASM Press. Washington DC. 423 hlm.
- Trianto, A., Wibowo, E., Suryono, S. dan Rahayu, S. 2004. Ekstrak daun mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*. 9(4):186-189.
- Urquhart, E.A., Jones, S. H., Yu, J. W., Schuster, B. M., Marcinkiewicz, A. L., Whistler, C. A., dan Cooper, V. S. 2016. Environmental conditions associated with elevated *Vibrio parahaemolyticus* concentrations in Great Bay Estuary, New Hampshire. *Plos One*. 11(5):1-2.
- Usman. 2017. Uji fitokimia dan uji antibakteri dari akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 2(3):169-177.
- Utami, N.K.T., Trianto, Agus., dan Radjasa, O.K. 2016. skrining senyawa antibakteri ekstrak spons dari perairan Kupang Nusa Tenggara Timur. *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V*. Hlm. 500 – 510.
- Verpoorte, R dan Alfermann, A. W. 2000. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Springer. Dordrecht. 286 hlm.



- Widjajanti, H., Ridho, M. R., Munawar, dan Andriani, O. 2015. Pengaruh ekstrak akar *Avicennia alba* dan *Rhizophora apiculata* serta konsentrasi hambat minimumnya terhadap *Vibrio* sp. (MC3P5). *Prosiding Semirata 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat*. Universitas Tanjungpura Pontianak. Hlm. 431-441.
- World Health Organization (WHO). 2014. Antimicrobial resistance : global report on surveillance 2014. <http://bit.ly/1rOb3cx>. Diakses pada 12 Januari 2021.
- Yamashita, M., Tsurumi, Y., Hosoda, J., Komori, T., Kosak, M., dan Imanaka, H. 1984. Cryscandin, a novel peptidyl nucleoside antibiotic taxonomy, fermentation, isolation and characterization. *Journal of Antibiotics*. 37(11):1279-1283.
- Yanuhar, U., Maftuch, Satuman, Sukoso, Sumarno. 2004. karakterisasi molekul adhesi protein pili *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus* pada sel epitel ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). *Prosiding Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity dalam Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV Purwokerto 18-19 Mei 2004*. Universitas Soedirman. Hlm.25-32.
- Yu, R. 2022. Antibacterial effect of plant extracts against *Vibrio Parahaemolyticus*. PlusVet Animal Health. <https://plusvet.eu/2022/04/18/-antibacterial-effect-of-plant-extracts-against-vibrio-parahaemolyticus/>. Diakses pada 1 Mei 2022.
- Yuasa K., Des Rosa, Koesharyani I., Johnny F., dan Mahardika K. 2000. General Remarks on Fish Disease Diagnosis. *Textbook For The Training Course on Fish Disease Diagnosis*. Lolitkanta-JICA Booklet. 12:5-18.
- Zhou, J., Wenhong, F., Xianle, Y., Shuai, Z., Linlin, H., Xincang, L., Xinyong, Q., Hang, S., dan Layue, X., 2012. A non luminescent and highly virulent *Vibrio harveyi* strain is associated with ‘‘bacterial white tail disease’’ of *Litopenaeus vannamei* shrimp. *Plos One*. 7(2):1-6.