

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT
MANGROVE SEBAGAI ANTIBAKTERI, *Staphylococcus aureus* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***

(Skripsi)

Oleh

RISKI PANGESTU



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

BIOAKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT MANGROVE SEBAGAI ANTIBAKTERI, *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh

Riski Pangestu

Kasus resistensi bakteri patogen menjadi salah satu permasalahan yang serius di dunia, termasuk di Indonesia. Pada penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa antibakteri yang berasal dari fungi endofit mangrove. Metode sampling diambil secara acak di hutan mangrove Petengoran Desa Gebang, Kec. Padang Cermin, Kab. Pesawaran. Bagian mangrove yang diambil terdiri dari akar, batang dan daun menggunakan media agar koloid kitin 1%, serta isolasi fungi menggunakan malt ekstrak agar. Pengamatan morfologi fungi dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan SEM. Isolat fungi selanjutnya dikultivasi menggunakan metode *solid state fermentation* (SSF), biomass fungi didapatkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut EtOAc dan bioaktivitas ekstraksnya diuji dengan bakteri resisten *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hasil sampling didapatkan 17 isolat fungi endofit yang berjenis *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. dan *Penicillium* sp. serta didapatkan berat ekstrak EtOAc berkisar 0,521-1,0 g. Ekstrak dengan kode 22-PLP1-F1 dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan persentase penghambat sebesar 74,6% pada kadar 250 µg/mL. Analisis FTIR pada fraksi 22-PLP1-F1-KU-MeOH menunjukkan bilangan gelombang 3324 cm⁻¹ merupakan gugus O-H dan 1267 cm⁻¹ menunjukkan adanya serapan gugus C-N, dari karakterisasi LC-MS/MS diperoleh molekul C₁₁H₁₉N₂O₃ dengan m/z 227 dalam keadaan M⁺ yang mengindikasikan struktur siklo(L-Leu-trans-4-hidroksi-L-Pro). Penelitian ini berhasil mendapatkan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram Positif, sehingga dapat menambah informasi tentang potensi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh fungi endofit mangrove.

Kata Kunci: Fungi, Antibakteri, Mangrove, LC-MS/MS, *Solid State Fermentation*

ABSTRACT

BIOACTIVITY OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF MANGROVE ENDOPHITE FUNGI AS ANTIBACTERIA, *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa*

By

Riski Pangestu

The case of petogen bacterial resistance is one of the serious problems in the world, including in Indonesia. This study aims to obtain antibacterial compounds derived from mangrove endophytic fungi. The sampling method was taken randomly in the Petengoran mangrove forest, Gebang village, Padang Cermin sub-district, Pesawaran district. Mangrove parts taken consisted of roots, stems and leaves using 1% chitin colloidal agar media, and isolation of fungi using malt extract agar. Observation of fungi morphology was carried out using a light microscope with 400x magnification and SEM. Fungi isolates were then cultivated using the solid state fermentation (SSF) method, fungi biomass was obtained by extraction using EtOAc solvent and the bioactivity of the extract was tested with resistant bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Based on the sampling results, 17 isolates of endophytic fungi were obtained, which were *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. and *Penicillium* sp. and the weight of the EtOAc extract ranged from 0.521-1.0g. The extract with the code 22-PLP1-F1 can inhibit the growth of *S. aureus* with an inhibitory percentage of 74.6% at a level of 250 µg/mL. FTIR analysis on fraction 22-PLP1-F1-KU-MeOH showed wave number 3324 cm⁻¹ is O-H group and 1267 cm⁻¹ shows the absorption of C-N group, from LC-MS/MS characterization obtained molecule C₁₁H₁₉N₂O₃ with m/z 227 in M⁺ state which indicates the structure of cyclo(L-Leu-trans-4-hydroxy-L-Pro). This study succeeded in obtaining compounds that were able to inhibit the growth of Gram-positive bacteria, this information is essential for enlighten the potetial of antibacterial compounds produced by mangrove endophytic fungi.

Keywords: Fungi, Antibacterial, Mangrove, LC-MS/MS, Solid State Fermentation

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT
MANGROVE SEBAGAI ANTIBAKTERI, *Staphylococcus aureus* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***

Oleh

Riski Pangestu

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **BIOAKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT MANGROVE SEBAGAI ANTIBAKTERI, *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

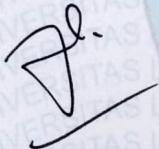
Nama Mahasiswa : **Riski Pangestu**


Nomor Pokok Mahasiswa : **1917011035**

Jurusan : **Kimia**

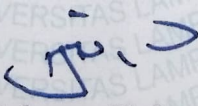
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Prof. Andi Setiawan, Ph.D.
NIP 19580922 198811 1 001


Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.
NIP 19770713 200912 2 002

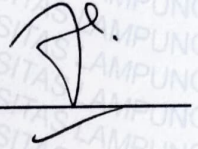
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

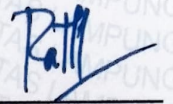
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

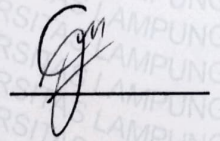
Ketua : **Prof. Andi Setiawan, Ph.D.**



Sekretaris : **Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.**



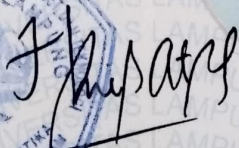
Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. John Hendri, Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 19711001 200501 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **13 Juli 2023**

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Riski Pangestu
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011035
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang berjudul **“Bioaktivitas Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Mangrove sebagai Antibakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”** adalah benar hasil karya saya sendiri, baik ide, hasil penelitian, maupun analisisnya.

Bandar Lampung, 13 Juli 2023

Yang Menyatakan,



Riski Pangestu
NPM. 1917011035

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Riski Pangestu, lahir di Bukit Kemuning 19 Agustus 2000. Penulis merupakan putra dari pasangan Bapak A Syarifudin dan Ibu Aminah. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara. Penulis menempuh pendidikan di TK PGRI Bukit Kemuning, SDN 1 Bukit Kemuning, SMPN 1 Bukit Kemuning, dan SMAN 1 Bukit Kemuning.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) pada tahun 2019. Penulis mengikuti berbagai organisasi selama di perguruan tinggi, baik himpunan mahasiswa jurusan kimia (HIMAKI) kepengurusan periode 2021. Selama kepengurusan penulis aktif mengikuti kegiatan yang diadakan himpunan baik tingkat jurusan hingga tingkat nasional dan berperan sebagai anggota Biro Penerbitan, penulis juga mengikuti organisasi fakultas yaitu UKM-Penelitian Universitas Lampung pada tahun 2019-2021 dan berperan sebagai anggota Bidang Infokom. Selama mengikuti organisasi fakultas penulis mengikuti berbagai kegiatan yang diadakan seperti Lomba Karya Tulis Ilmiah dan Business Plan tingkat Nasional.

Pada tahun 2022, penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) Putra Daerah di Desa Hujan Mas, Kecamatan Abung Barat, Kabupaten Lampung Utara. Penulis menyelesaikan Praktek Kerja Lapangan di UPT-LTSIT Universitas Lampung. Penulis menyelesaikan penelitian skripsi yang berjudul “Bioaktivitas Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Mangrove sebagai Antibakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*” pada tahun 2023.

MOTTO

“Lakukan semua yang kamu inginkan, jangan pedulikan pendapat orang lain. Ikuti saja kata hatimu.”

(Tale of Nokdu)

“Siapa yang menunjukkan kepada kebaikan maka dia akan mendapat pahala sebanyak yang didapat oleh orang yang mengerjakannya.”

(HR. Muslim)

“Lakukanlah kebaikan sekecil apapun, karena kau tak pernah tahu kebaikan apa yang akan membawamu ke surga.”

(Imam Hasan Al-Bashri)

“Perbanyak bersyukur, kurangi mengeluh. Buka mata, jembarkan telinga, perluas hati. Sadari kamu ada pada sekarang, bukan kemarin atau besok, nikmati setiap momen dalam hidup, berpetualanglah.”

(Ayu Estiningtyas)

“If you want to love others, you should love yourself first.”

(RM)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang"

Dengan mengucapkan Alhamdulillahillobbil 'alamin atas ridho Allah dengan segala rasa syukur kupersembahkan karya kecil ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawab kepada:

Kedua orang tuaku,

Bapak A Syarifudin dan Ibu Aminah yang telah menyayangi, merawat, mendidik, mengajarkan kebaikan, dan selalu mendo'akan keberhasilanku dalam setiap sujud

Ayu, Kakak, dan Adik-adikku yang selalu memberikan semangat dan do'a yang terbaik untukku

Pembimbing penelitianku:

Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D.

Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.

Bapak Prof. John Hendri, Ph.D.

Terima kasih atas ilmu, nasihat, dan kesabaran dalam membimbing saya selama ini

Dosen jurusan Kimia yang telah membagi ilmunya

Sahabat dan teman-temanku
Almamater Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah robbil ‘alamin segala puji bagi Allah subhanahu wa ta’ala atas segala nikmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Bioaktivitas Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Mangrove sebagai Antibakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa***”. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad Shalallahu ‘alaihi wassalam, serta kepada keluarga dan para sahabatnya.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian tesis ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, menasehati, dan selalu memotivasi saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
2. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku Pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan dan motivasi baik selama penelitian maupun sampai penyelesaian skripsi.
3. Bapak Prof. John Hendri, Ph.D. selaku Pembahas dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak masukan, nasihat, arahan selama kuliah di Jurusan Kimia, dan selalu mendukung segala proses selama kuliah hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Sekertaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang sudah memberikan ilmu, pengalaman, nasihat, dan motivasi selama pembelajaran di kelas.
7. Seluruh sivitas akademik Universitas Lampung.
8. Penyemangat dan superheroku, Bapak A Syarifudin dan Ibu Aminah, yang sudah mendo'akan dan mensupport penulis untuk menyelesaikan studinya.
9. Kakak-kakakku Eka Aprianti, S.I.P. dan Heri Jailani, serta adik-adikku Muhamad Bilal Hasbullah dan Hendico Wannabi yang selalu menyemangati, menghibur, membantu, dan mendo'akanku hingga saat ini.
10. Teman-teman seperjuangan "Andi Research'19" Fatur Rohim, Reza Fadillah, dan Mia Milanda yang telah kebersamai selama penelitian.
11. Sahabatku Bukit Kemuning M. Raihan Saputra, Muhammad Aru Saputra, Tarisa Valenia, Rizki Gustiani Merliana, Gina Salsabila, M. Aulia Fajrunada, Lola Devarani, Ilham Rajab, dan Dwi Putri Raya yang selalu memberikan keceriaan, pengertian, waktu, dukungan, dan selalu menerima penulis apa adanya. Semoga persahabatan kita selalu terjalin baik hingga tua nanti.
12. Sahabatku "Eren gaes" Dony Ega Utama, Ahmad Barep Prayogo dan Ibnu Fadillah yang telah memberikan semangat, canda tawa, dan sudah membantu penulis hingga saat ini. Terimakasih sudah menjadi sahabat dari mahasiswa baru hingga sampai saat ini.
13. Teman-teman diskusi sosialku Kania Nur Aisa, Rizky Hadi Wijaya, Unggul Sulistio Utomo, Neng Wiwit Liawati, Virginia Nuh Reza Amanda, Sabila Amalya Hertanto, Ayu Aulia Putri, Erika Noviana, Dian Rifani Mutia, dan Sabrina Oca Velinda yang selalu memberikan semangat, waktu, dan canda tawa kepada penulis, semoga kita menjadi manusia yang lebih baik lagi.
14. Kepada partner LTSIT kak Rosyi, kak Fendi, kak Lanang, mba Caca, mba Mega, mba Ika, kak Chasya, kak Wulan, mba Anggi, kak Indra, kak Rido, Ginda Mifta, Dira, Leha, Opi, Sinur, Cici, Adel, Silvi, dan Datun atas bantuan, kebersamaan, dan kerjamanya selama penulis menyelesaikan

penelitian.

15. Teman mabar Mobile Legends Wailhaq Sahara, M Yusuf dan Adiya Raihan Mubarak.
16. Seluruh Chemistry'19 yang sudah menjadi keluarga selama kuliah.
17. Kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu terimakasih telah membantu menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan mereka Aamiin.

Penulis menyadari terdapat kekurangan dari laporan akhir ini baik dalam isi maupun cara penyajian. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca. Aamiin

Bandar Lampung, Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
I. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Ekosistem Mangrove.....	4
2.2. Mikroba Endofit.....	6
2.2.1. Fungi Endofit Mangrove.....	6
2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba Resisten.....	8
2.3.1. Alkaloid sebagai antibakteri.....	9
2.4. Kultivasi.....	11
2.4.1. <i>One Strain Many Compounds</i> (OSMAC).....	12
2.5. Uji Antibakteri.....	12
2.6. Bakteri Uji.....	13
2.7. Bakteri Patogen.....	15
2.7.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.7.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.8. Karakterisasi.....	16
2.8.1. <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS).....	17
2.8.2. <i>Fourier Transform Infrared Spektroskopi</i> (FTIR).....	17
II. METODE PENELITIAN	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Prosedur Penelitian.....	20
3.3.1. Isolasi Fungi dari Mangrove.....	20
3.3.2. Morfologi Fungi Endofit Mangrove.....	20
3.3.3. Kultivasi, Ekstraksi dan Partisi.....	21
3.3.4. Uji Aktivitas Antibakteri.....	21

3.3.5. Karakterisasi	22
III. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Sampling dan Pengkayaan	23
4.2. Isolat Fungi	25
4.3. Kultivasi dan Ekstraksi	28
4.4. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
4.5. Skrining Uji Antibakteri	30
4.6. Morfologi Fungi 22-PLP-F1	31
4.7. Variasi Media	32
4.8. Partisi dan KLT Ekstrak 22-PLP1-F1	33
4.9. Uji Antibakteri	35
4.10. Karakterisasi Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)	36
4.11. Karakterisasi <i>Liquid Chromatography Mass Spectroscopy</i> (LC-MS/MS)	37
IV. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ekosistem mangrove	4
2. Penampakan mikroskopik fungi endofit mangrove (Perbesaran 400x, Zeiss Imager A1)	7
3. (A) Target yang telah terbukti untuk obat antibakteri dan (B) mekanisme resistensi antibiotik dalam bakteri	9
4. Struktur kerangka heterosiklik yang termasuk kelompok alkaloid	10
5. (1) Piperin, (2) biberin dan (3) diktamin.	11
6. Sel bakteri menyebabkan reduksi resazurin menjadi resofurin.	13
7. Membran sel bakteri Gram positif dan Gram negatif.	14
8. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
9. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
10. Lokasi pengambilan sampel	23
11. Pengkayaan fungi pada media agar koloid kitin 1% setelah 10 hari Ket: (a-d) daun, (e-h) batang dan (i-l) akar	24
12. Tujuh belas isolat fungi endofit pada media MEA setelah 7 hari	25
13. Penampakan fungi yang diisolasi pada mikroskop Axio Zeiss Imager A1 Perbesaran 400x	27
14. Diagram jumlah fungi yang berhasil diisolasi	27
15. (a) Penampakan inokulum setelah 7 hari; (b) Penampakan kultivasi isolat fungi dengan SSF pada media kulit udang setelah 14 hari	28
16. Analisis KLT ekstrak fungi menggunakan SiO ₂ dan eluen n-hex:EtOAc (a) UV λ 254 nm; (b) Ce(SO ₄) ₂ dan (c) dragendroff Ket: 1. (22-PLP2-F1), 2 (22-PLP2-F2), ..., 17. (22-PRP4-F2)	30
17. Persentase penghambat ekstrak EtOAc fungi terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>P. aureuginosa</i> setelah diinkubasi selama 18 jam	31
18. (a) Fungi 22-PLP1-F1 pada media MEA setelah 4 hari inkubasi; (b) Fungi 22-PLP1-F1 dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x dan (c) Fungi 22-PLP1-F1 dengan SEM	32

19. (a) Kultivasi pada media kentang; (b) Kultivasi pada media kulit udang dan (c) Kultivasi pada media beras	33
20. KLT ekstrak 22-PLP1-F1 pada ketiga media Ket: 1 (media kulit udang), 2 (media kentang) dan 3 (media beras)	34
21. KLT setiap fraksi dari ketiga ekstrak 22-PLP1-F1 Ket: (1) Kulit udang-MeOH, (2) Kulit udang-hexan, (3) Kentang-MeOH, (4) Kentang-hexan, (5) Beras-MeOH dan (6) Beras-hexan	35
22. Persentase penghambat dari keenam fraksi terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i> setelah 18 jam inkubasi	36
23. Spektrum IR 22-PLP1-F1-KU-MeOH	36
24. Kromatogram LC-MS/MS fraksi 22-PLP1-F1-KU-MeOH	38
25. Spektrum massa fraksi 22-PLP1-F1-KU-MeOH pada waktu retensi 4.37 menit	40
26. Kemungkinan senyawa $C_{11}H_{19}N_2O_3$ $[M+H]^+$ m/z 227 (siklo(L-Leu-trans-4-hidroksi-L-Pro))	40
27. Diagram alir penelitian	54
28. Titik pengambilan sampel	55
29. Penampakan 17 isolat dengan mikroskop axioo zeiss A1 perbesaran 400×	57
30. Rumus presentase penghambat pertumbuhan bakteri terhadap <i>S. aureus</i>	59
31. Pengamatan resazurin hasil skiring antibakteri <i>S. aureus</i> setelah 2 jam	62
32. Pengamatan resazurin hasil skiring antibakteri <i>P. aureuginosa</i> setelah 2 jam	62
33. Pengamatan resazurin hasil skrining antibakteri 22-PLP1-F1 variasi media terhadap <i>S. aureus</i> setelah 2 jam	63
34. Pengamatan resazurin hasil skrining antibakteri 22-PLP1-F1 variasi media terhadap <i>P. aureuginosa</i> setelah 2 jam	63
35. Kromatogram blanko MeOH	65
36. Spektrum m/z 227 dengan energi tinggi	65
37. Pola fragmentasi formula molekul $C_{11}H_{19}N_2O_3$ m/z 227 $[M+H]^+$	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat fungi endofit.....	26
2. Analisis FT-IR fraksi 22-PLP1-F1-KU-MeOH.....	37
3. Komponen senyawa pada fraksi 22-PLP1-F1-KU-MeOH.....	39
4. Berat ekstrak kasar EtOAc.....	58
5. Nilai presentase penghambat pertumbuhan bakteri terhadap <i>S. aureus</i>	59
6. Nilai persentase penghambat pertumbuhan bakteri terhadap <i>P. aureuginosa</i>	60
7. Nilai persentase penghambat ekstrak 22-PLP1-F1 variasi media terhadap <i>S. aureus</i>	61
8. Nilai persentase penghambat ekstrak 22-PLP1-F1 variasi mdia terhadap <i>P. aureuginosa</i>	61
9. Nilai Rf ekstrak kasar hasil kultivasi tujuh belas isolat.....	64

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antimicrobial Resistance (AMR) saat ini menjadi salah satu permasalahan dunia terkait pengobatan kasus infeksi, termasuk di Indonesia. Tingginya AMR di Indonesia disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat pada pelayanan kesehatan (Siahaan *et al.*, 2022). Pada tahun 2011 Menteri Kesehatan Republik Indonesia menyatakan bahwa setidaknya 12.209 kasus *antibiotic resistant bacteria* (ARB) telah ditemukan, yang diperkirakan setiap tahunnya akan meningkat sebanyak 6.935 kasus (Kristanto and Koven, 2019). Bahkan di beberapa rumah sakit di Indonesia ditemukan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebanyak 13-26% dari total seluruh kasus resisten di Indonesia (Dahesihdewi *et al.*, 2019). Hal ini membuktikan bahwa permasalahan resistensi antimikroba terjadi juga di Indonesia.

Bakteri patogen *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter species* (ESKAPE) merupakan sekelompok bakteri patogen yang mematikan (Jiang *et al.*, 2018; Rice 2008). *The Centers for Disease Control* (CDC) memperkirakan patogen ESKAPE yang resisten antibiotik menyebabkan lebih dari 2 juta penyakit dan sekitar 23.000 kasus kematian per tahunnya (Najafi and Arumugam, 2016). Oleh sebab itu *World Health Organization* (WHO) menghimbau tentang perlunya mengkaji berbagai faktor terkait dan strategi untuk mengendalikan kejadian resistansi, salah satunya penemuan senyawa antibiotik baru.

Berdasarkan uraian tersebut perlu mencari terobosan baru di bidang kesehatan khususnya untuk penemuan sumber-sumber senyawa antibakteri terutama dari senyawa metabolit sekunder dari alam. Senyawa bahan alam saat ini masih diandalkan sebagai sumber alternatif antimikroba. Salah satunya tanaman mangrove, pada tanaman mangrove terkandung beberapa senyawa aktif yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri seperti alkaloid (Ravikumar *et al.*, 2011). Kandungan bioaktif pada tanaman mangrove tidak selalu berasal dari tanaman mangrove itu sendiri, namun dapat berasal dari organisme lain yang mensintesis senyawa bioaktif tersebut, organisme tersebut dapat berupa mikroba endofit (Situmorang dkk, 2021). Mikroba endofit hidup dalam jaringan tumbuhan, senyawa bioaktif pada mikroba endofit berfungsi untuk mempertahankan eksistensi tumbuhan inang agar bertahan hidup dan untuk melindungi dirinya dari predator. Hal ini lah yang membuat mikroba endofit terus-menerus memproduksi senyawa baru sebagai pertahanan untuk melindungi inangnya (Posangi dan Bara 2014; Rozirwan *et al.*, 2020). Fungi, bakteri, dan virus merupakan mikroorganisme pada jaringan tumbuhan inang, akan tetapi fungi endofit paling banyak dikembangkan saat ini karena fungi endofit lebih banyak menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Rozirwan *et al.*, 2014) termasuk alkaloid dengan struktur yang beragam (Wu Wang *et al.*, 2014).

Fungi endofit yang berasal dari tanaman obat, dapat menghasilkan senyawa yang sama pada tumbuhan inangnya. Bahkan senyawa yang dihasilkan fungi endofit seringkali memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas senyawa dari tumbuhan inangnya (Fitriana dan Nursithya, 2017). Banyak penelitian di berbagai tempat juga mengisolasi potensi fungi endofit dari mangrove. Seperti yang telah dilaporkan oleh Hamzah *et al.*, (2018) bahwa fungi *Alternaria*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Pestalotiopsis*, *Phoma*, dan *Xylaria* yang diisolasi dari mangrove *Rhizophora mucronata* menghasilkan senyawa metabolit yang menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*. Informasi tersebut mengindikasikan bahwa fungi yang berasal dari mangrove memiliki potensi sebagai penghasil senyawa bioaktif antibakteri.

Namun menurut Situmorang dkk., (2021) di Indonesia penelitian mengenai fungsi endofit khususnya pada mangrove sangatlah terbatas. Disisi lain, pada tahun 2021 Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan merilis data total luas hutan mangrove di Indonesia seluas 3.364.076 Ha dan Provinsi Lampung memiliki ekosistem hutan mangrove dengan luas 10.533,676 Ha (Amelia dkk., 2020; Ghufuran dan Kordi 2012). Bahkan potensi fungsi dari ekosistem mangrove sebagai penghasil senyawa antimikroba juga masih sedikit diketahui, sehingga menarik untuk dieksplorasi, diidentifikasi dan diisolasi (Simoes, 2015).

Dalam penelitian ini dilakukan kajian terkait senyawa bioaktif yang berasal dari fungi endofit mangrove yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri resisten yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Namun yang membedakan penelitian ini dari penelitian lain yaitu dengan melakukan kultivasi dari tiga media yaitu beras, kulit udang, dan kentang dengan menerapkan *one strain many compounds* (OSMAC) dimana dapat mengaktifkan jalur metabolisme untuk mendapatkan senyawa bioaktif dengan beragam struktur (Wei *et al.*, 2010).

1.2. Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi jenis fungi endofit mangrove.
2. Mendapatkan senyawa bioaktif dari isolat fungi endofit mangrove.
3. Menguji aktivitas dan mengkarakterisasi fungi endofit sebagai senyawa aktif dengan menggunakan metode LC-MS/MS.

1.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi baru terkait potensi isolat fungi endofit tumbuhan mangrove di kawasan hutan mangrove Petengoran sebagai sumber senyawa antibakteri

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekosistem Mangrove

Ekosistem mangrove merupakan ekosistem hutan yang terletak di antara daratan dan lautan, seperti yang terlihat pada Gambar 1. Ekosistem mangrove global terbesar yaitu Asia sebesar 42% dari total seluruh dunia (Singh *et al.*, 2014) dan Indonesia memiliki luas hutan mangrove sebesar 3.364.076 Ha (Amelia dkk., 2020). Terdapat 70 spesies mangrove yang termasuk ke dalam 17 famili berbeda. Famili terbesar yaitu Rhizophoraceae, yang terdiri dari empat genus mangrove: *Bruguiera*, *Ceriops*, *Kandelia* dan *Rhizophora* (Tomlinson, 2016).



Gambar 1. Ekosistem mangrove

Mangrove merupakan komunitas vegetasi pantai tropis yang khas, tumbuh dan berkembang pada daerah pasang surut, terutama di dekat sungai, laguna, muara dan

pantai yang terlindung dengan lumpur berpasir (Prihadi dkk., 2018). Ekosistem mangrove terdiri dari kesatuan antara mangrove, hewan dan organisme lain yang berinteraksi dengan lingkungannya (Menteri Kehutanan No.P35 Tahun 2010). Selain itu mangrove juga memiliki ciri-ciri yang mencolok, yaitu akar tunjang yang besar dan berkayu, pucuk yang tertutup daun penumpu yang berbentuk meruncing, serta memiliki buah yang berkecambah serta berakar ketika masih di pohon (Tumangger dan Fitriani, 2019).

Ekosistem hutan mangrove muncul pada daerah yang terjadi pelumpuran dan akumulasi bahan-bahan organik pada daerah yang terlindung dari arus atau gelombang laut air laut. Kondisi ekosistem mangrove tergolong ekstrim, aerasi tanah yang kurang, kadar garam atau salinitas yang tinggi, serta mengalami daur penggenangan akibat pasang surut air laut. Ekosistem mangrove menghasilkan senyawa organik yang berasal dari produk serasah mangrove oleh mikroorganisme dekomposer yang menjadi sumber makanan organisme penghuni ekosistem mangrove sehingga hutan mangrove kaya akan bahan organik (Aida dkk., 2014; Andrianto dkk., 2015). Adanya aktivitas mikroorganisme tersebut tergantung pada ketersediaan karbon-karbon yang dioksidasi. Karbon bersama dengan unsur lainnya seperti fosfor (P) dan nitrogen (N) melalui proses fotosintesis (Romimohtarto dan Juwana, 2001).

Mikroba yang hidup di lingkungan mangrove didominasi oleh bakteri sebesar 80% dan 20% berupa fungi, protozoa, dan mikroalga (Alongi, 2005). Mikroba yang hidup dalam ekosistem mangrove terutama fungi memainkan peran yang penting dalam ekosistem laut. Kondisi lingkungan yang bervariasi dalam ekosistem mangrove membuat mikroba yang hidup di dalamnya dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan yang cukup intens termasuk oksigen, keterbatasan nutrisi, pasang surut air laut, suhu dan cahaya yang tinggi menyebabkan adaptasi tumbuhan mangrove dalam jalur metabolisme mengarah pada biosintesis metabolit bioaktif yang aktif secara struktural (Thatoi *et al.*, 2013).

2.2. Mikroba Endofit

Hutan mangrove adalah ekosistem kompleks yang menampung berbagai kelompok mikroorganisme termasuk actinomycetes, bakteri, jamur, cyanobacteria, mikroalga, makroalga dan protozoa seperti jamur (Purnomo dkk., 2016). Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan serta mampu membentuk suatu koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa memberikan efek negatif pada inangnya (Kasi dkk., 2015). Mikroba endofit berfungsi untuk mempertahankan tumbuhan inang untuk tetap dapat bertahan hidup dan untuk melindungi diri dari predator. Oleh sebab itu mikroba endofit secara terus menerus memproduksi senyawa-senyawa kimia (Posangi dan Bara, 2014; Rozirwan *et al.*, 2020). Salah satu mikroorganisme yang termasuk mikroba endofit yaitu fungi. Fungi endofit dapat diisolasi dari akar, batang dan daun suatu tanaman (Mukhlis dkk., 2018).

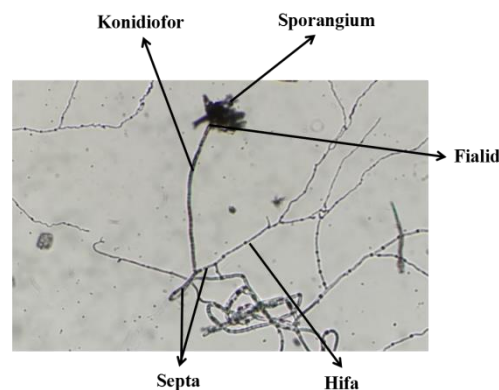
2.2.1. Fungi Endofit Mangrove

Adaptasi dan aktivitas fungi endofit terjadi di dalam tanaman mangrove sebagai fungsi fakultatif atau fungi penghuni. Fungi endofit menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Fungi-fungi yang berhasil diisolasi ternyata mampu menghasilkan senyawa yang menarik dan bermanfaat. Hal ini disebabkan karena fungi endofit mengalami koevolusi transfer genetik dari inangnya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroba endofit memiliki potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal, karena mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi (Hasiani dkk., 2015).

Fungi endofit adalah mikroorganisme yang berada di dalam jaringan tumbuhan yang berupa akar, daun atau batang. Fungi endofit pada dasarnya jatuh di ascomycota dan kelompok basidiomycota. Fungi endofit adalah mutualis tanaman dan menunjukkan berbagai manfaat bagi tanaman inang, misalnya cekaman abiotik, resistensi terhadap patogen dan penyakit dan produksi metabolit sekunder. Ada

lebih dari satu juta spesies fungi endofit berasosiasi dengan tumbuhan di seluruh dunia yang dapat memberikan berbagai produk bioaktif sekunder seperti alkaloid, benzopyrones, flavonoids, fenol, fitokimia dan agen antikanker (Chadha *et al.*, 2014).

Berdasarkan laporan Jones *et al.*, (2015) dalam lima tahun terakhir fungi laut telah berhasil diklasifikasikan menjadi 1.112 spesies. Famili Halosphariaceae merupakan kelompok fungi laut terbesar dengan anggota 141 spesies terdiri dari 59 genus yang dibagi kedalam *Aspergillus* (47 spesies), *penicillium* (39 spesies) dan yeast *Candida* (64 spesies). Identifikasi fungi dapat dilakukan secara makroskopis berdasarkan warna, hifa dan bentuk, sedangkan mikroskopis berdasarkan bentuk spora, hifa dan konidiofor (Yolanda *et al.*, 2022) seperti Gambar 2.



Gambar 2. Penampakan mikroskopik fungi endofit mangrove (Perbesaran 400x, Zeiss Imager A1)

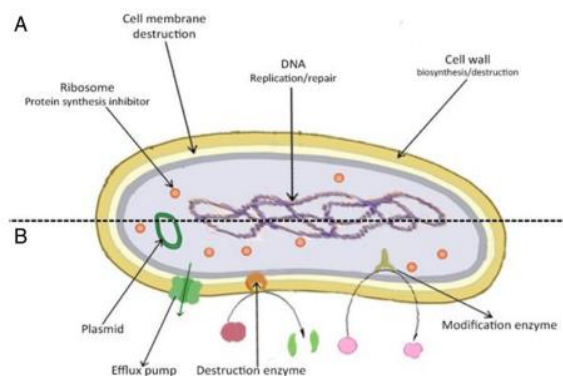
Metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang berasal dari fungi telah dilaporkan dari tahun 2003 dan sudah sekitar 4.000 jenis metabolit. Sebagian besar metabolit ini diproduksi oleh fungi yang disebut “Creative fungi” (Padhi *et al.*, 2013). Pada penelitian Schulz *et al.*, (2002) mengisolasi sekitar 6.500 fungi endofit dan diuji potensi biologisnya. Sebanyak 135 metabolit sekunder yang di analisis dan menemukan bahwa 51% senyawa bioaktif (38% dari isolat tanah) diisolasi dari fungi endofit merupakan produk alam baru.

Dilain tempat fungi endofit dari mangrove telah dilaporkan memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen, seperti yang dilaporkan oleh Pakadang *et al.*, (2021) dimana ia mengisolasi fungi endofit yang berasal dari buah mangrove jenis

Sonneratia alba, dari 2 isolat fungi yang berhasil diisolasi memiliki potensi sebagai agen antibakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*). Dari hal tersebut fungi endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri, seperti penelitian dari Laksmi *et al.*, (2022) melaporkan bahwa fungi endofit yang berasal dari mangrove daerah Kalimantan Timur menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli*, berdasarkan identifikasi kimiawi menggunakan analisis LC-MS menunjukkan senyawa potensial antibakteri dari salah satu ekstrak fungi yaitu beauvericin, choline, quinoline dan cyclo (phenylalanyl prolyl).

2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba Resisten

Senyawa bioaktif memiliki mekanisme kerja antimikroba sangat beragam dan komponen sel patogen yang terpengaruh sangat beragam. Aktivitas antibakteri suatu agen terutama dikaitkan dengan dua mekanisme, yang meliputi campuran tangan kimia dengan sintesis atau fungsi komponen vital bakteri, dan/atau menghindari mekanisme konvensional dari resistensi antibakteri. Gambar 3 menunjukkan mekanisme ini dan seperti yang dapat diamati, ada beberapa target untuk agen antibakteri yang terdiri dari (I) biosintesis protein bakteri, (II) biosintesis dinding sel bakteri, (III) bakteri penghancur membran sel, (IV) replikasi DNA bakteri dan perbaikan dan (V) penghambatan jalur metabolisme (Khameneh *et al.*, 2019).

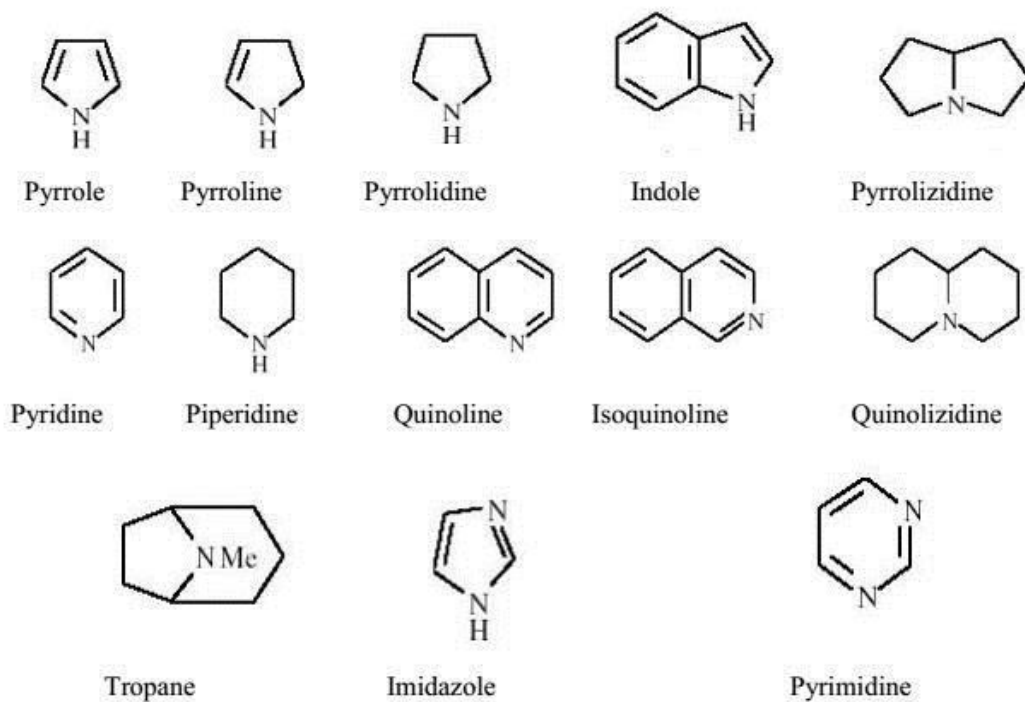


Gambar 3. (A) Target yang telah terbukti untuk obat antibakteri dan (B) mekanisme resistensi antibiotik dalam bakteri (Khameneh *et al.*, 2019)

2.3.1. Alkaloid sebagai antibakteri

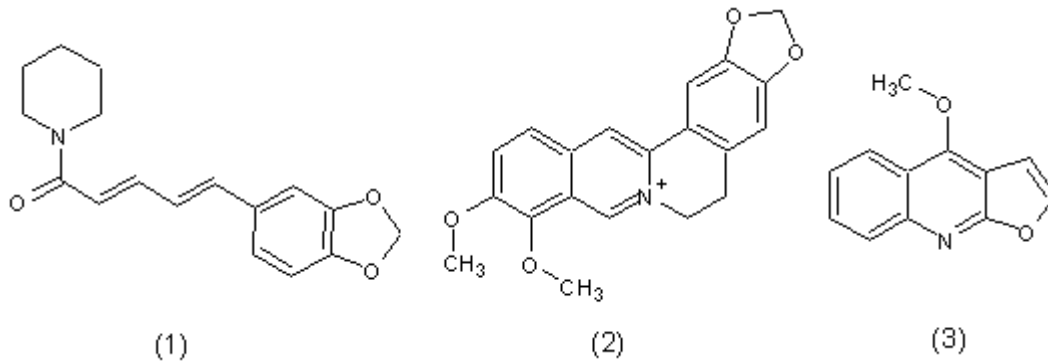
Salah satu golongan metabolit sekunder yang memiliki sifat antimikroba adalah Alkaloid. Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder yang besar dan beragam secara struktural yang berasal dari mikroba, tumbuhan atau hewan. Alkaloid dapat ditemukan disekitar 300 jenis tanaman. Alkaloid adalah struktur heterosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Othman *et al.*, 2019). Alkaloid heterosiklik dibagi menjadi beberapa macam yaitu alkaloid indol, alkaloid diketopiperazine, alkaloid pirolidin, alkaloid piperidin dan alkaloid heterosiklik lainnya seperti yang terlihat pada Gambar 4 (Bribi, 2018).

Aktivitas antibakteri alkaloid telah terbukti dan banyak penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa ini dapat memainkan peran penting dalam pengobatan banyak penyakit menular. Sebagian besar alkaloid bertindak melalui aktivitas EPI, yang merupakan mekanisme diduga fungsi antibakteri (Khameneh *et al.*, 2019). Terdapat beberapa jenis alkaloid yang penting dengan aktivitas antibakteri yang kuat seperti piperin, berberin dan dictamin yang dapat dilihat pada Gambar 5. Piperin merupakan alkaloid tipe piperidine, diisolasi dari piper ngrum dan piper longum, jika digunakan bersama dengan ciprofloxacin dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* resisten dan juga nilai MIC untuk *S. aureus* berkurang secara nyata (Khan *et al.*, 2006). Penerapan piperin sebagai EPI dan hasilnya menunjukkan bahwa senyawa ini mempengaruhi aktivitas NorA EP dari *S. aureus* dan MRSA (Khameneh *et al.*, 2015). Biberin dikenal sebagai alkaloid isoquinolin dan telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Senyawa ini telah menunjukkan aktivitas terhadap bakteri, jamur, protozoa dan virus. Hasil penelitian pun menunjukkan bahwa sifat antibakterinya terkait dengan interaksi DNA, menargetkan RNA polimerase, girase dan topoisomerase IV dan akhirnya penghambatan pembelahan sel (Iwasa *et al.*, 2001).



Gambar 4. Struktur kerangka heterosiklik yang termasuk kelompok alkaloid

Senyawa biberin juga mampu menghambat fungsi sel bakteri melalui berbagai mekanisme seperti merusak struktur sel, serta protein dan DNA inhibitor sintesis yang mengakibatkan kematian bakteri. Hingga saat ini, biberin muncul sebagai antibiotik konvensional dan juga untuk mengatasi kendala resistensi antibiotik (Khameneh *et al.*, 2019). Alkaloid quinolin, seperti diktamin telah menunjukkan aktivitas yang menjanjikan. Alkaloid kuinolin alami atau sintesis dapat menghambat enzim topoisomerase tipe II dan akibatnya, menghambat replikasi DNA juga (Heeb *et al.*, 2011). Alkil metil quinolin dapat mengurangi konsumsi O₂ pada bakteri yang diobati dan karenanya, dapat dianggap sebagai penghambat pernapasan (Tominaga *et al.*, 2002).



Gambar 5. (1) Piperin, (2) biberin dan (3) diktamin (Khameneh *et al.*, 2019).

2.4. Kultivasi

Kultivasi merupakan sebuah metode peremajaan mikroba dalam media buatan di luar habitat alaminya secara aseptik. Kultivasi bertujuan untuk memperbanyak jumlah mikroba dengan cara menumbuhkan mikroba tersebut dalam media biakan secara *in vitro* di laboratorium (Purnomo *et al.*, 2008). Metode kultivasi yang sering digunakan sebagai metode peremajaan adalah *solid state fermentation* (SSF). SSF adalah metode fermentasi yang dilakukan tanpa adanya cairan yang mengalir bebas (walaupun mengandung cukup air untuk pertumbuhan mikroorganisme), menggunakan bahan yang tidak larut yang bertindak sebagai pendukung padat dan sumber nutrisi (Castro *et al.*, 2018).

Metode SSF umumnya memiliki kadar air yang bervariasi dari 30% sampai 80% dan berfungsi sebagai pelarut untuk menyediakan nutrisi, mengais sisa metabolisme, dan untuk mempertahankan struktur biologis yang terorganisir pada tingkat molekuler dan seluler (Gervais and Molin, 2003). SSF saat ini digunakan dalam berbagai aplikasi termasuk aplikasi klasik, seperti produksi enzim atau antibiotik, produk yang dikembangkan baru-baru ini, seperti senyawa bioaktif dan *organic acids*. Organisme yang dapat tumbuh dalam fermentasi padat adalah jamur, termasuk jamur *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. yang dapat menghasilkan senyawa antibiotik (Jimenez and Martinez, 2017).

2.4.1. One Strain Many Compounds (OSMAC)

Metabolit sekunder mikroba memiliki berbagai aktivitas biologis karena keragaman strukturalnya dan terbukti sebagai sumber utama senyawa obat. Namun, metode tradisional dengan cara kultur tunggal membatasi jalur metabolisme mikroba dan akibatnya banyak metabolit yang tidak terbentuk (Wei *et al.*, 2010). Parameter pendekatan OSMAC seperti mengubah kandungan nutrisi, suhu, dan laju aerasi, mengubah fisiologi global strain mikroba dan secara signifikan mempengaruhi metabolisme sekundernya (Romano *et al.*, 2018).

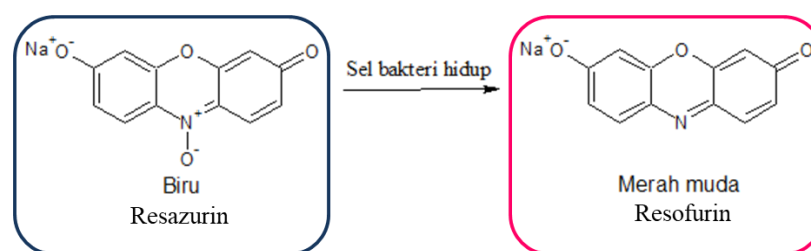
Pendekatan OSMAC digunakan sebab dapat memaksimalkan produktivitas *biosynthetic gene cultures* (BGCs) dari mikroorganisme (Pan *et al.*, 2019). Beberapa penelitian yang pernah dilakukan untuk mendapatkan metabolit sekunder dengan pendekatan OSMAC, seperti yang dijelaskan oleh Romano *et al.*, (2018) dimana ia memodifikasi pertumbuhan dengan mengubah parameter pertumbuhan mikroba seperti suhu, salinitas, dan aerasi pada jamur *Aspergillus ochraceus*. Kemudian jamur tersebut dapat menghasilkan 15 metabolit sekunder tambahan, sementara sebelumnya hanya diketahui menghasilkan satu metabolit bernama aspinonene.

2.5. Uji Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri dan biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Secara umum, mekanisme kerja senyawa antibakteri dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim. Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik yang digunakan untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Salah satu uji antibakteri adalah skrining ekstrak fungi dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate 96-wells*. Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) sampel antibakteri terhadap bakteri uji yang dapat didefinisikan sebagai

konsentrasi (mg/L) pertumbuhan bakteri yang terlihat dapat dicegah dengan kondisi yang telah ditentukan (Wiegand *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini pertumbuhan bakteri dilihat dengan cara pengukuran kekeruhan menggunakan alat Hospitex Diagnostics. Adanya perubahan media dari bening menjadi keruh pada metode dilusi cair menandakan bahwa bakteri telah tumbuh. Parameter yang diukur pada metode dilusi cair adalah tingkat kekeruhan yang ditunjukkan dengan *Optical Density* (OD), yakni kerapatan pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan blanko (Pratiwi, 2008). Apabila suspensi bakteri pada 600 nm telah sesuai dengan standar McFarland 0,5 (0,08-0,1), bakteri telah dapat digunakan untuk pengujian. Perbaikan metode mikrodilusi dilakukan dengan penambahan resazurin sebagai indikator redoks. Uji reduksi resazurin tidak mahal dan tidak beracun bagi sel pada konsentrasi rendah dan memiliki periode inkubasi singkat yaitu <4 jam (Gloeckner *et al.*, 2001). Sel bakteri aktif mereduksi senyawa non-fluoresazurin (biru) ke resofurin fluoresen (merah atau merah muda) (O'brain *et al.*, 2000) dan sinyal fluoresen yang kuat diukur menggunakan spektrofotometer untuk memberikan penilaian komprehensif aktivitas metabolik seluler secara non invasif dalam populasi sel. Mekanisme sel bakteri yang hidup ketika diberi resazurin dapat dilihat Gambar 6.



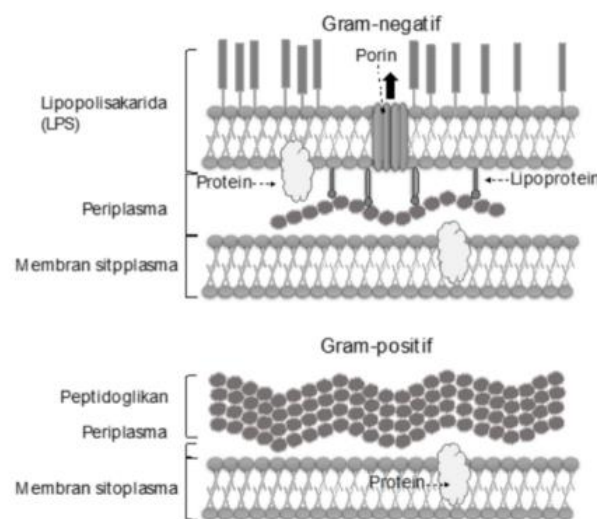
Gambar 6. Sel bakteri menyebabkan reduksi resazurin menjadi resofurin (Elshikh *et al.*, 2016).

2.6. Bakteri Uji

Bakteri adalah jenis mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dibandingkan organisme lain dan tersebar luas di seluruh dunia. Bakteri juga

merupakan mikroorganisme yang termasuk dalam kelompok prokariota, karena tidak memiliki dinding inti yang berbeda dan sejati. Jadi seluruh bagian inti mereka tersebar di sekitar DNA dalam kromosom, tetapi mereka luas dan bebas di dalam kromosom (Rini dan Rochmah, 2020).

Berdasarkan strukturnya, bakteri dibedakan menjadi dua yaitu struktur dasar dan struktur tambahan. Struktur dasar meliputi dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, granula dan DNA. Struktur tambahan termasuk kapsul, flagella, fimbriae, klorosom, vakuola dan endospora. Berdasarkan struktur dinding sel, bakteri dibagi menjadi dua kelompok: Gram-positif dan Gram-negatif. Gambar 7 menunjukkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram-negatif. Bakteri Gram-positif memiliki struktur dinding sel monolayer (sel tunggal) dengan ketebalan sekitar 15-80 nm. Bakteri Gram-negatif, disisi lain memiliki struktur dinding sel tipis sekitar 10-15 nm (Rini dan Rochman, 2020).



Gambar 7. Membran sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Koentrojo dan Prasetyo, 2020).

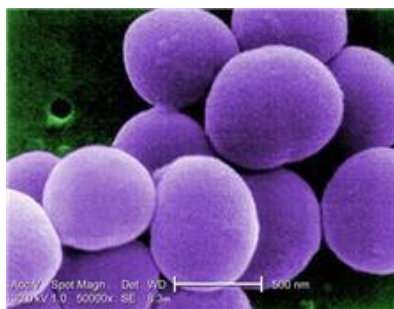
Selain itu memiliki perbedaan lain, pada bakteri Gram-positif memiliki kandungan lipid rendah (1-4%), terdapat asam teikoat, peptidoglikan, sebagai lapisan tunggal dan lebih rentan terhadap penicillin. Sedangkan bakteri Gram-negatif memiliki kandungan lipid tinggi (11-22%), tidak terdapat asam teikoat, peptidoglikan ada dalam lapisan kaku dan kurang rentan terhadap penicillin (Boleng, 2015).

2.7. Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menimbulkan penyakit baik melalui invasi langsung atau penyebaran melalui makanan. Pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri patogen melibatkan penggunaan antibiotik, obat yang telah diformulasikan khusus untuk membunuh bakteri (Sirinivasan *et al.*, 2015). Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian ini adalah *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.

2.7.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah sekelompok bakteri kokus (globular) yang hidupnya suka bergerombol seperti yang terlihat pada Gambar 8. *S. aureus* adalah bakteri Gram-positif, dengan diameter 0,5-1,5 μm , dalam satu koloni berbentuk bulat, dapat hidup dilingkungan dengan rentan konsentrasi garam yang tinggi. *S. aureus* adalah mikroorganisme patogen terhadap manusia, resistensi terhadap antibiotik salah satunya vankomisin, vankomisin adalah antibiotik glikopeptida yang digunakan untuk perawatan infeksi Gram-positif termasuk metisilin *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Stoessel *et al.*, 2018).



Gambar 8. *Staphylococcus aureus* (CDC, 2011)

S. aureus juga dapat menyebabkan infeksi berat, pada manusia terutama infeksi kulit dan septicemia terkait dengan *S. aureus* (Monecke *et al.*, 2011). Bakteri *S. aureus* pada hewan juga dapat menyebabkan berbagai infeksi, termasuk infeksi kulit, infeksi luka dan mastitis (Schwarz *et al.*, 2013).

2.7.2. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri Gram-negatif aerodobligant, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0 μm seperti yang terlihat pada Gambar 9. Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan tidak dapat memfermentasikan karbohidrat (Toyofoku, 2011). *P. aeruginosa* merupakan bakteri oportunistis yaitu bakteri yang menyebabkan infeksi hanya pada orang yang keadaan imunnya menurun. *P. aeruginosa* juga dapat membentuk biofilm yang terbuat dari kapsul glikokaliks untuk mengurangi keefektifan mekanisme sistem imun inang sehingga dapat mempertahankan hidup lebih lama (Gould dan Brooker, 2003).



Gambar 9. *Pseudomonas aeruginosa* (CDC, 2019)

2.8. Karakterisasi

Karakterisasi senyawa yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR)

2.8.1. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*

LC-MS/MS adalah instrumen analisis yang menggabungkan kromatografi cair sebagai pemisah komponen-komponen analit dalam sampel, dengan spektrometri massa sebagai detektor. LC-MS/MS dengan konfigurasi yang dioptimalkan meningkatkan sensitivitas, pengulangan dan kekokohan analisis MS dan meningkatkan kualitas data. Secara instan meningkatkan kinerja hampir semua eksperimen LC-MS terlepas dari jenis atau merek MS yang digunakan (Waters, Beverly, MA, USA).

Kolom LC dapat memisahkan hampir semua campuran yang bisa dilarutkan, sedangkan spektrometri massa akan mengionisasi peak yang dipisahkan dan menghasilkan berat molekul untuk setiap komponen dari peak tersebut. Sistem LC-MS/MS dapat menghasilkan pola fragmentasi yang khas dari ion induk (*parent ion*) dan dapat memisahkan ion pemecah (*daughter ion*) untuk proses identifikasi dan kuantifikasi. Komponen dasar sistem LC-MS/MS adalah sistem pompa LC, kolom pemisahan, interface ionisasi, MS: sistem vakum, lensa fokus, analyzer, detektor ion dan sistem data/kontrol.

Quadrupole Time of Flight (QToF) adalah aplikasi metode spektrometri massa, penentuan berat molekul didasarkan pada rasio massa terhadap muatan (m/z) molekul dan *Flight time* di medan listrik. Kombinasi dengan kromatografi cair memberikan hasil analisa yang akurat dan berguna untuk penelitian terkait analisis protein, peptida, polinukleotida, proteomik dan metabolomik (Hermita dkk., 2019).

2.8.2. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Spektrofotometri inframerah merupakan salah satu jenis instrumen analisis kimia yang digunakan untuk penentuan sekaligus identifikasi gugus fungsi yang berikatan dalam suatu senyawa, prinsip kerja dari instrumen tersebut dengan radiasi elektromagnetik dilewatkan pada sampel analit dengan panjang gelombang diantara

400-4000 cm^{-1} , kemudian terjadi interaksi ikatan-ikatan molekul dalam analit yang diserap sehingga mengalami peregangan (*stretching*) ataupun terjadi penekukkan (*rocking*) ikatan molekul senyawa, maka diserap kembali energi oleh molekul tersebut. Serapan tersebut direkam detektor kemudian diubah menjadi pita serapan dengan bilangan gelombang tertentu dan spesifik gugus fungsi suatu senyawa (Atkins *et al.*, 2013).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 sampai Januari 2023 yang bertempat di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung meliputi preparasi sampel dan instrumen FTIR. Analisis LC-MS/MS dilakukan di Laboratorium Forensik Badan Reserse Polri Sentul Bogor. Lokasi pengambilan sampel mangrove dilakukan di hutan mangrove Petengoran, Desa Gebang, Kec. Padang Cermin, Kab. Pesawaran, Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, mikropipet, pinset, gunting, *cutter*, ose, oven, pembakar spiritus, *hot plate*, spatula, karet gelang, spidol, *microplate* 96-well IWAKI, mikrotip, *autoclave* Tony SX-700, neraca analitik Wigen Houser, *rotary evaporator* Buchii/R210, *laminar air flow* ESCO/AVC4A1, *incubator* Memmert-German/INC-02, mikroskop cahaya axio Zeiss A1, *scanning electron microscopy* (SEM) Zeiss EVO MA10, *Hospitex reader*, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat aluminium *silica gel* DC kiesel 60F254, lampu UV Kohler/SN402006, kolom kaca, *coverslip*, tabung *Eppendorf* microtube, kasa, *aluminum foil*, plastik *wrap* dan plastik tahan panas.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi agar, akuades, air laut buatan, koloid kitin, spiritus, etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH) pa, n-heksan, alkohol

70%, reagen visualisasi KLT meliputi $Ce(SO_4)_2$ dan dragendorff, MeOH 12,5%, *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Malt Extract* (ME), *methylene blue*, resazurin, media kultivasi (beras, kentang dan kulit udang), bakteri patogen (*S. aureus* dan *P. aeruginosa*) dan antibiotik kloramfenikol.

3.3. Prosedur Penelitian

Penelitian ini melakukan beberapa tahapan yang dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.1. Isolasi Fungi dari Mangrove

Sampel mangrove dikoleksi dari hutan mangrove Petengoran, Pesawaran, Lampung, Indonesia pada 28 April 2022. Pengambilan sampel dilakukan secara acak pada 4 yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 2. Bagian mangrove berupa sepotong kecil bagian batang, akar dan daun yang telah dibilas dan dihomogenka dalam air laut steril digunakan sebagai sumber fungi endofit. Bagian tumbuhan mangrove yang telah steril diletakkan pada media agar koloid kitin 1%. Isolat yang telah dimurnikan digores pada agar ME pada suhu 40 °C.

3.3.2. Morfologi Fungi Endofit Mangrove

Fungi yang ditempatkan pada media dan ditutup dengan coverslip kemudian diidentifikasi secara morfologis sebagai fungi dengan mikroskop cahaya, menggunakan mikroskop Observer A1 Zeiss. *Malt Extract Agar* (MEA) dan TSB dituangkan pada petridish dan dibiarkan memadat. Organisme kemudian digoreskan di atas media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 hari (Goodfellow *et al.*, 2012). Selain menggunakan mikroskop cahaya, pengamatan morfologi fungi dilakukan dengan SEM. SEM dilakukan untuk mempelajari susunan miselium dan spora dari jamur yang diisolasi. Fungi ditumbuhkan pada media standar setelah 4 hari dan sebagian kecil kaca penutup dipotong menggunakan mikrotom SLEE Disposable Blades sehingga diperoleh potongan

berukuran 0,5 cm dengan ketebalan 0,1 cm. Sampel yang telah disiapkan ditempatkan pada stub, yang difiksasi dengan tab perekat karbon. Permukaan atas setiap rintisan kemudian dilapisi, di bawah vakum, dengan lapisan emas. Proses pelapisan emas (Quorum Q150R ES, Jerman) selesai dalam ~20 menit. Rintisan logam berlapis emas dilihat pada SEM pada tegangan percepatan 20 Kv (Setiawan *et al.*, 2022).

3.3.3. Kultivasi, Ekstraksi dan Partisi

Isolat fungi endofit diinokulasi dengan media cair koloid kitin sebanyak 20 mL pada erlenmeyer 100 mL, kemudian didiamkan selama 7 hari. Selanjutnya 2 mL inokulum ditambahkan pada masing-masing petridish (15x100 mm) yang berisi media padat kulit udang, beras dan kentang dengan masing-masing 10 g, mengacu pada (Setiawan *et al.*, 2021). Pengerjaan kultivasi dilakukan secara triplo, isolat fungi endofit dikultur selama 14 hari pada suhu kamar dengan keadaan statis. Selanjutnya biomass fungi hasil kultivasi diekstrak menggunakan EtOAc sebanyak (100 mL) 2× ekstraksi. Ekstrak EtOAc yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator pada suhu 40° dan tekanan 95 mbar. Ekstrak EtOAc selanjutnya dilakukan partisi dengan menggunakan MeOH dan n-hexan (1:1) 2× pengulangan ekstraksi.

3.3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak fungi diuji menggunakan *microplate* 96-well sesuai dengan pedoman *Clinical and laboratory standards institute* (CLSI 2017). Secara singkat, pengenceran dilakukan dua kali lipat dari ekstrak dibuat dengan melarutkan 2 mg ekstrak fungi dalam 1 mL MeOH 12,5% (2,0 µg mL⁻¹) dan 50 µL larutan ekstrak dan 25 µL suspensi bakteri ditambahkan ke masing-masing well. Suspensi bakteri dibuat dari 12 jam koloni murni *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Suspensi disesuaikan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland (10⁸ CFU mL⁻¹) dan selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada 37 °C. Sumur dengan MeOH 12,5% digunakan

sebagai kontrol pelarut dan *well* tanpa bakteri digunakan sebagai kontrol kontaminasi. Kontrol ekstrak juga disertakan, setiap perlakuan dilakukan secara triplo, kemudian ditempatkan dalam inkubator selama 18 jam dan diukur nilai absorbansi (Abs) diukur pada 630 nm menggunakan *Hospitex reader* (Italia). selanjutnya, uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) hanya dilakukan pada ekstrak aktif (Elsikh *et al.*, 2016).

3.3.5. Karakterisasi

Karakterisasi ekstrak EtOAc hasil isolat unggul dilakukan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan LC-MS/MS berbasis M^+ . Fraksi aktif dilakukan dalam MeOH dan dianalisis menggunakan LC-MS/MS, yang dilengkapi dengan ACQUITY sistem UHPLC (Waters), kolom ACQUITY UPLC HSS C18 (1,8 μm 2,1 \times 100 mm (Waters) dan Xevo G2-S Qtof Mass Spectro (Waters) (Widyastuti *et al.*, 2022).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Telah berhasil diisolasi 17 isolat fungi endofit mangrove yang berasal dari hutan mangrove Petengoran, Kab. Pesawaran, Lampung. Berdasarkan jenis fungi didapatkan jenis *Aspergillus* sp (10 isolat) *Trichoderma* sp. (6 isolat) dan *Penicillium* sp. (1 isolat).
2. Berdasarkan hasil skrining antibakteri, ekstrak EtOAc dari media kulit udang dengan kode isolat 22-PSP1-F1, 22-PSP4-F2, 22-PLP2-F2 dan 22-PLP1-F1 mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan persentase penghambat sebesar 74,6; 74,4; 68,9 dan 74,7% pada konsentrasi 250 µg/mL.
3. Hasil Uji antibakteri terhadap 6 fraksi dari ekstrak 22-PLP1-F1 menunjukkan bahwa 22-PLP1-F1-KU-MeOH (ekstrak kulit udang) mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan persentase penghambat sebesar 75,2% pada konsentrasi 250 µg/mL.
4. Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan serapan bilangan gelombang 1267 cm⁻¹ mengindikasikan serapan C-N, serapan ikatan O-H yang muncul pada bilangan gelombang 3287 cm⁻¹ dan daerah serapan 1647 dan 1707 cm⁻¹ diidentifikasi sebagai gugus C=O
5. Hasil analisis LC-MS/MS berbasis M⁺ menunjukkan adanya komponen senyawa turunan pirazin yaitu siklo(L-Leu-trans-4-hidroksi-L-Pro) dengan formula molekul C₁₁H₁₈N₂O₃ dan m/z 227.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu adanya kajian lebih lanjut mengenai aktivitas dari isolat 22-PLP1-F1 sebagai antifungal dan antikanker, serta untuk mengetahui struktur spesifik senyawa yang didapatkan perlu dilakukannya pemurnian dan karakterisasi NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelberg, Jawetz, dan Melnick. 2008. *Medical microbiology*. Kedokteran EGC. Jakarta.
- Aida, G. R., Wardiatno, Y., Fahrudin, A., Mohammad dan Kamal, M. 2014. Produksi serasah mangrove di pesisir Tangerang, Banten. *J. Ilmu Pertanian Indonesia*. 19(2):91-97.
- Alongi, D. M. 2005. Mangrove microbe soil relations, interactions between macro and microorganisms in marine sediments. *American Geophysical Union Washington*. 60: 85-103.
- Amelia, S., Nurmayasari, I. dan Viantimala, B. 2020. Faktor-faktor yang berhubungan dengan partisipasi masyarakat dalam program Lampung Mangrove Center (LMC) di Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur. *JIIA*. 8(2): 218-255.
- Andrianto, F., Bintoro, A. dan Yuwono, S. B. 2015. Produksi dan laju dekomposisi serasah mangrove (*Rhizophora* sp.) di Desa Durian dan Desa Batu Menyan Kecamatan Padang Cermin Kabupaten Pesawaran. *Jurnal Sylva Lestari*. 3(1):9-20.
- Astuti, P., Rollando, R., Pratoko, D. K., Wahyuono, S. and Nurrochmad, A. 2021. Antimicrobial and cytotoxic activities of a compound produced by an endophytic fungus isolated from the leaves of *Coleus amboinicus* Lour. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 13(1): 2632-2644.
- Atkins, P. W., Jones, L. and Laverman, L. E. 2013. *Chemical Principles*. W. H. Freeman.
- Bribi, N. 2018. Pharmacological activity of alkaloids: a review. *Asian Journal of Botany*. 1: 1-6.
- Boleng, D. T. 2015. *Bakteriologi konsep-konsep dasar*. UMM Press. Malang.
- Castro, A. M., Santos, A. F., Kachrimanidou, V., Koutinas, A. A. and Freire, D. M. G. 2018. Solid-state fermentation for the production of proteases and

amylases and their application in nutrient medium production. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. 185-210.

- Chadha, N., Mishra, M. and Prasad, R. 2014. Root endophytic fungi: research update. *Journal of Biology and Life Science*. 5(2): 135-158.
- Cherniienko, A., Pawelczyk, A. and Zaprutko, L. 2022. Antimicrobial and odour qualities of alkylpyrazines occurring in chocolate and cocoa products. *Applied Sciences*. 12(11361):1-27.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2011. *Staphylococcus aureus in healthcare settings*. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/staph.html> diakses tanggal 15 April 2023 pukul 20.00 WIB.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2018. *Pseudomonas aeruginosa in healthcare settings*. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html> diakses tanggal 15 April 2023 pukul 20.21 WIB.
- Dahesihdewi, A., Sugianli, A. and Parwati, I. 2019. The surveillance of antibiotics resistance in Indonesia: a current reports. *Bali Medical Journal*. 8(2): 474-479.
- Dai, C., Yu, B. and Li, X. 2008. Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *African Journal of Biotechnology*. 7(19): 3505-3510
- Damayanti, A. A., Trisnawati, N. L. P. dan Suyanto, H. 2021. Identifikasi bilangan gelombang daun sirih (*Piper* sp.) menggunakan metode spektroskopi fourier transform infrared (FTIR) dan principal component analysis (PCA). *Buletin Fisika*. 22(2): 60-66.
- Dawolo, B., Puspita, F. dan Armani. 2017. Identifikasi jamur endofit tanaman karet dan uji in-vito anti mikroba terhadap *Rigidoporus microporus*. *Jom FAPERTA*. 4(2): 1-11.
- Elshikh. M., Ahmed. S., Funston. S., Dunlop. P., McGaw. M., Marchant. R. and Banat, I. M. 2016. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett*. 38:1015-1019.
- Fibriana, F., Amalia, A. V. dan Mubarak, I. 2017. Isolasi dan Karakterisasi mikroorganisme penghasil pigmen dari limbah kulit kentang. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sains*. 40(1):7-13.
- Filizola, P. R. B., Lunal, M. A. C., Souza, A. F., Coelho, I. L., Laranjeira, D. and Takaki, G. M. C. 2019. Biodiversity and phylogeny of novel *Trichoderma* isolates from mangrove sediments and potential of biocontrol against *Fusarium* strains. *Microb Cell Fact*. 18(89): 1-14.

- Fitriana dan Nursithya, E. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit dari akar mangrove (*Rhizophora apiculata blume*) secara KLT-Bioautografi. *Jurnal Farmasi*. 9(1): 27-36.
- Gervais, P. and Molin, P. 2003. The role of water in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 13: 85-101.
- Ghufran, M. dan Kordi, K. M. 2012. *Ekosistem mangrove: potensi, fungsi, dan pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Gloeckner, H., Jonuleit, T. and Lemke, H. D. 2001. Monitoring of cell viability and cell growth in a hollow-fiber bioreactor by use of the dye alamar blue. *J. Immunol Methods*. 252(1-2):131-8.
- Gomes, D. N. F., Cavalcanti, M. A. Q. and Passavante, J. Z. O. 2011. Fungos filamentosos isolados de sedimento do manguezal Barra das Jangadas, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil. *Trop. Oceanogr*. 39(1): 36-45.
- Goodfellow, M., Kampfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I. and Ludwig, W. 2012. *The Actinobacteria part a - berger's manual of systematic bacteriology*. Springer. New York,
- Gould, D. dan Brooker, C. 2003. *Mikrobiologi terapan untuk perawat*. EGC. Jakarta.
- Hamzah, T. N. T., Lee, S. Y., Hidayat, A., Terhem, R., Hanum, I. F. and Mohamed, R. 2018. Diversity and characterisation of endophytic fungi isolated from the tropical mangrove species, *Rhizophora mucronata*, and identification of potential antagonists against the soil-borne fungus, *Fusarium solani*. *Frontiers in Microbiology*. 9.
- Hartati, S., Danial, M. dan Salempa, P. 2021 Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etil asetat daun kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt) merr). *Jurnal Chemical*. 22(1): 84-93.
- 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*. 11(4): 146-153.
- Heeb, S., Fletcher, M. P., Chhabra, S. R., Diggle, S. P., Williams, P. and Camara, M. 2011. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. *FEMS Microbiol Rev*. 35(2) :247-74.
- Hermita, K., Harahap, Y. dan Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penerbitan. Jakarta.

- Hsu, S. C. and Lockwood, J. L. 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of Actinomycetes in water and soil. *ASM Journals*. 29(3).
- Ismed, F., Arifa, W. N. D. N., Rustini, R. and Putra, D. P. 2021. TLC-Bioautographic and LC-MS/MS detection of antimicrobial compounds from four semipolar extracts of cladonia species. *Advances in Health Sciences Research*. 40: 49-59.
- Iwasa, K., Moriyasu, M., Yamori, T., Turuo, T., Lee, D.U. and Wiegrebe, W. 2001. In vitro cytotoxicity of the protoberberine-type alkaloids. *J Nat Prod*. 64(7): 896-8.
- Jiang, L., Lin, J., Taggart, C. C., Bengoecheal, J. A. and Scott, C. J. 2018. Nanodelivery strategies for the treatment of multidrug-resistant bacterial infections. *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 3(3): 111-121.
- Jimenez, M. A. L. and Matinez, R. H. 2017. Solid state fermentation (SSF): diversity of applications to valorize waste and biomass. *3 Biotech*. 7(1): 44-53.
- Jones, G., Suetrong, S., Sakayaroj, S., Bahkali, A. H., Wahab, A. A. A., Boekhout, T. and Pang, K. L. 2015. Classification of marine *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota* and *Chytridiomycota*. *Fungal Diversity*. 1-72.
- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowowr, 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 Kehutanan (Kemenhut). 2010. *Peraturan Menteri Kehutanan No.P35 Tahun 2010 Tentang Cara Penyusunan Rencana Teknik Rehabilitasi Hutan dan Lahan DAS (RTkRHL-DAS)*. Kementerian Kehutanan. Jakarta.
- Khalimah, D. dan Ainy, E. Q. 2019. Isolasi fungi endofit daun mangrove *Avicennia marina* dan uji aktivitasnya sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* ATCC. *Symposium of Biology Education (Symbion)*. 2: 298-305.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Ghandadi, M., Ghoochi, Atashbeyk, D., Fazly, Bazzaz, B. S. and Iranshahi, M. 2015. Investigation of the antibacterial activity and efflux pump inhibitory effect of co-loaded piperine and gentamicin nanoliposomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drug Dev Ind Pharm*. 41(6): 989-94.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V. and Bazzaz, B. S. F. 2019. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 8(118): 1-28.

- Khan, I. A., Mirza, Z. M., Kumar, A., Verma, V. and Qazi, G. N. 2006. Piperine, a phytochemical potentiator of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 50(2): 810-2.
- Koomnok, C., Teaumroong, N., Rerkasem, B. and Lumyong, S. 2007. Diazotroph endophytic bacteria in cultivated and wild rice in Thailand. *Science Asia.* 33: 429-435.
- Kristanto, G. A. and Koven, W. 2019. Preliminary study of antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital wastewater treatment plants in Indonesia. *International Journal of Technology.* 10(4): 765-775.
- Kumar, S. N., Nath, V. S., Chandran, R. P. and Nambisan, B. 2014. Cyclic dipeptides from rhabditid entomopathogenic nematode associated *Bacillus cereus* have antimicrobial activities. *World J Microbiol Biotechnol.* 30: 439-449.
- Laila, A., Setiawan, F., Widyasdtuti, W., Fadhilah, M. R., Setiawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Apriliana, E., Ahmadi, P., Arai, M. and Hendri, J. 2023. Exploration and biorefinery antimicrobial agent through solidstate fermentation from Indonesia's marine *Actinomycetes*. *Fermentation.* 9(334): 1-14.
- Laksmi, F. T., Sukarno, Budjianto, S., Rahmawati, S. I., Harmoko, R., Izzati, F. N., Bachri, S., Anidah, Nelanda, S. I., Yusmur, A., Aslan and Ilman, M. 2022. Antibacterial activity profile of mangrove endophytic fungi isolated from berau regency, Indonesia. *BIOTEKNOLOGI & BIOSAINS INDONESIA.* 9(1): 86-99.
- Lamb, T. G., Tonkyn, D. W. and Kluepfel, D. A. 1996. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can. J. Microbiol.* 42: 1112-1120.
- Mukhlis, D. K., Rozirwan dan Hendri, M. 2018. Isolation and antibacterial activity endhophytic fungi of mangrove *Rhizophora apiculata* from mangrove region Tanjung Api-Api Distric Banyuasin South Sumatera. *Maspari Journal.* 10(2): 151-160.
- Najafi, A. and Arumugam, S. 2016. *There is no Escape from the ESKAPE pathogens.* <https://emerypharma.com/blog/eskape-pathogens-explained/> diakses tanggal 29 Juli 2022 pukul 21.00 WIB.
- Narendrababu, B. N. and Shishupala. S. 2017. Spectrophotometric detection of pigments from *Aspergillus* and *Penicillium* isolates. *Journal of Applied Biology & Biotechnology.* 5(1): 053-058.

- Ningsih, E. P., Ariyani, D. dan Sunardi. 2019. Pengaruh penambahan carboxymethyl cellulose terhadap karakteristik bioplastik dari pati ubi nagara (*Ipomoea batatas* L.). *Indo. J. Chem. Res.* 7(1): 69-77.
- Noman, E., Al-Gheethi, A., Rahman, N. N. N. A., Hideyuki, N., Talip, B. A., Mohamed, R and Kadir, M. O. A. 2020. Microstructures of *Aspergillus* sp. and their role in contaminating clinical solid wastes. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 42(6): 1-10.
- O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T. and Pognan, F. 2000. Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European journal of biochemistry/FEBS.* 267(17): 5421-6.
- Ooi, T. S., Ting, A. S. Y. and Siow, L. F. 2020. Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: a simulation study. *LWT.* 122: 108977.
- Othman, L., Sleiman, A. and Abdel-Massih, R. M. 2019. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. *Front microbiol.* 10:911.
- Padhi, L., Mohanta, Y. K. and Panda, S. K. 2013. Endophytic fungi with great promises: a review. *J. Adv. Pharm. Edu. & Res.* 3(3): 152-170.
- Pakadang, S. R., Marsus, I. and Ihsanawati. 2021. Antibakterial activity of endophytic fungus isolates of mangrove fruit (*Sonneratia alba*) against *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*. *Jurnal Info Kesehatan.* 19(1): 55-63.
- Palit, K., Rath, S., Chatterjee, S. and Das, S. 2022. Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: threats, vulnerability, and adaptations. *Environ Sci Pollut Res.* 2: 32467-32512.
- Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H. and Wang, H. 2019. Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: a literature review. *Front Microbiology.* 10: 294.
- Posangi, J. dan Bara, R.A. 2014. Analisis aktivitas dari jamur endofit yang terdapat dalam tumbuhan bakau *Avicennia marina* di Tasik Ria Minahasa. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis.* 1(1): 30-38.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi farmasi.* Erlangga. Jakarta.
- Prihadi, D.J., Riyantini, I. dan Ismail, M.R. 2018. Pengelolaan kondisi kosistem mangrove dan daya dukung lingkungan kawasan wisata bahari mangrove di Karangsong Indramayu. *Jurnal kelautan nasional.* 13(1):53-64.

- Prihanto, A. W. 2012. Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicillium Notatum* ATCC 28089 dengan *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *JPHPI*. 15(1): 66-70.
- Purnomo, A.S., Kamei, I. and Kondo, R. 2008. Degradation of 1,1,1-trichloro- 2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDT) by brown-rot Fungi. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 105: 614-621.
- Purnomo, P. W., Widyorini, N. dan Ain, C. 2016. *Analisis C/N rasio dan total bakteri pada sedimen kawasan konservasi mangrove Sempa dan Sungai Betahwalang dan Sungai Jajar Demak*. Undip Press. Semarang.
- Ravikumar, S., Ali, M. S., Ramu, A. and Ferosekhan, M. 2011. Antibacterial activity of chosen mangrove plants against bacterial specified pathogens. *World Applied Sciences Journal*. 14 (8): 1198-1202.
- Rendowaty, A., Djamaan, A. dan Handayani, 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.
- Rice, L. B. 2008. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J. Infect Dis*. 197(8):1079-1081.
- Rini, C. S. dan Rohmah, J. *Buku ajar bakteriologi dasar*. UMSIDA Press. Jawa Timur.
- Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S. and Dobson, A. D. W. 2018. Extending the “One Strain Many Compounds” (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Marine drugs*. 244(16), 1-29.
- Romimohtarto, K. dan Juwana, S. 2001. *Biologi laut: ilmu pengetahuan tentang biota laut*. Djambatan. Jakarta.
- Rozirwan, Bengen, D. G., Zamani, N. P., Effendi, H. and Chaidir. 2014. Screening on the potential bioactive compounds of antibacterial activity in soft coral collected from South Bangka island waters and Lampung bay. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 6(2): 283-295.
- Rozirwan, Muda, H. I. and Ulqodry, T. Z. 2020. Antibacterial potential of actinomycetes isolated from mangrove sediment in Tanjung api-api, South Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(12): 5723-5728.
- Sangeetha, J., Unnikrishnan, R., Jasmin, H. and Steffi, S. M. 2020. Isolation and morphological identification of culturable endophytic fungal species from mangrove ecosystem. *Applied Ecology and Environmental Sciences*. 8(3): 128-134.

- Sarkar, R., Sasmal, S., Podder, D. and Haldar, D. Solvent assisted room temperature synthesis of magnetically retrievable and reusable dipeptide stabilized nanocrystals for suzuki-miyauracross-coupling. *Macromol. Symp.* 369: 67-73.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger S. and Rommert, A. K. 2002. Endophytic fungi, a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol. Res.* 106: 996-1004.
- Schwarz, S., Kadlec, K. and Silley, P. 2013. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin, first ed. zett-verlag, steinen. *J. Antimicrob. Chemother.* 65: 601-604.
- Setiawan, A., Widyastuti, W., Irawan, A., Wijaya, O. K., Laila, A., Setiawan, W. A., Juliasih, N. L. G. R., Nonaka, K., Arai, M. and Hendri, J. 2021. Solid state fermentation of shrimp shell waste using *Pseudonocardia carboxydivorans* 18A13O1 to produce bioactive metabolites. *Fermentation.* 7(247): 2-11.
- Setiawan, A., Lutfiah, R., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Hendri, J. and Arai, M. 2022. Antibacterial activity of EtOAc extract from marine-derived fungus *Aspergillus nomiae* A12-RF against clinical pathogen bacteria, *Staphylococcus aureus*. *AACL Bioflux.* 15(3): 1413-1421.
- Shafira, M., Rifai, E., Gustiniati, D., dan Anwar, M. 2022. Focus group discussion tindak pidana destructive fishing dan dampaknya terhadap keberlanjutan pariwisata bahari Kabupaten Pesawaran. *JPKMI.* 3(1): 12-26.
- Siahaan, S., Herman, M. J. and Fitri, N. 2022. Antimicrobial resistance situation in Indonesia: a challenge of multisector and global coordination. *Journal of Tropical Medicine.* 2022: 1-10
- Singh, C. R, Kathiresan, K., Anandhan, S. and Suganthi, K. 2014. Antioxidant and antibacterial activity of field grown and tissue cultured root callus of mangrove species. *Eur J Med Plants.* 4: 723-742.
- Simoës, M. F. 2015. Soil and rhizosphere associated fungi in gray mangroves (*Avicennia marina*) from the Red Sea-A metagenomic approach. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics.* 13(5): 310-320.
- Sirinivasan, R., Karaoz., U., Volegova, M., MacKichan, J., Katomaeda, M., Miller, S., Nadarajan, R., Brodie, E. L. and Lynch, S. V. 2015. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. *PLoS ONE.* 10(2): 1-22.
- Situmorang, D. A. G., Rozirwan, dan Hendri, M. 2021. Isolasi dan aktivitas antibakteri jamur endofit pada mangrove *Avicennia marina* dari Pulau

Payung Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 23 (3): 125-133.

- Socaciu, C., Fetea, F., Ranga, F., Bunea, A., Dulf, F., Socaci, F. and Pintea, A. 2020. Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) coupled with chemometrics, to control the botanical authenticity and quality of cold-pressed functional oils commercialized in Romania. *Applied Sciences*. 10(8695): 1-15.
- Stoessel, A.M., Hale, C.M., Seabury, R.W., Miller, C.D. and Steele, J. 2018. The impact of AUC-Based monitoring on pharmacist-directed vancomycin dose adjustments in complicated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Pharmacy Practice*. 1:5.
- Suryadi, Y. T. P., Priyatno, M., Samudra, D. N., Susilowati, N., Lawati dan Kustaman, E. 2013. Isolasi dan karakterisasi kitinase asal *Bacillus cereus* 11 UJ. *J. Agro Biogen*. 9(2): 77-84.
- Susilo, S., and Suciati., R. 2016. Studies of morphological and secondary metabolites variety of mosses (*Bryophyta*) in Cibodas, West Java. *International Journal of Advanced Research*. 4(12): 1397-1402.
- Takahashi, J. A., Pereira, C. R., Pimenta, L. P., Boaventura, M. A. D. and Silva, L. G. E. 2006. Antibacterial activity of eight Brazilian Annonaceae plants. *Natural Product Research*. 20(1): 21-26.
- Thatoi, H. B. C., Behera, R. R., Mishra and Dutta, S. K. 2013. Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: a review. *Ann. Microbiol*. 63:1-19.
- Thorati, M., Mishra, J. K. and Kumar, S. 2016. Isolation, identification of endophytic fungi from mangrove roots along the coast of South Andaman Sea, Andaman and Nicobar Islands, India. *Journal of Marine Biology & Oceanography*. 5(2): 1-5.
- Tominaga, K., Higuchi, K., Hamasaki, N., Hamaguchi, M., Takashima, T. and Tanigawa T. 2002. In vivo action of novel alkyl methyl quinolone alkaloids against helicobacter pylori. *J Antimicrob Chemother*. 50(4): 547-52.
- Tomlinson, P. B. 2016. *The botany of mangroves*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Toyofuku, M., Hiroo, U. and Nobuhiko, N. 2011. Social behaviours under anaerobic conditions in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiology*. 2012: 1-7.
- Trianto, A., Radjasa, O. K., Sibero, M. T., Sabdono, A., Haryanti, D., Zilulah, W. O. M., Syanindyta, A. R., Bahry, M. S., Widiananto, P. A., Helmi, M.,

- Armono, H. D., Supriadi *and* Igarashi, Y. 2020. The effect of culture media on the number and bioactivity of marine invertebrates associated fungi. *BIODIVERSITAS*. 21(1): 407-412.
- Tsang, C. C., Tang, J. Y. M., Lau, S. K. P. *and* Woo, P. C. Y. 2018. Taxonomy and evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the omics era—past, present and future. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 16: 197-210.
- Tumangger, B. S. dan Fitriani. 2019. Identifikasi dan karakteristik jenis akar mangrove berdasarkan kondisi tanah dan salinitas air laut di Kuala Langsa. *Jurnal biologica samudra*. 1 (1): 9-16.
- Viccini, G., Mannich, M., Capalbo, D. M. F., Sanhueza, R. V. *and* Mitchell, D. A. 2007. Spore production in solid-state fermentation of rice by *Clonostachys rosea*, a biopesticide for gray mold of strawberries. *Process Biochemistry*. 42:275-278.
- Wei, H., Lin, Z., Li, D., Gu, Q. *and* Zhu T. 2010. [OSMAC (one strain many compounds) approach in the research of microbial metabolites--a review]. *Acta Microbiologica Sinica*. 50(6):701-709.
- Widyastuti, W., Setiawan, F., Afandy, C. A., Irawan, A., Laila, A., Juliasih, N. L. G. R. Setiawan, W. A., Arai, M., Hendri, J. *and* Setiawan, A. 2022. Antifungal agent chitooligosaccharides derived from solid-state fermentation of shrimp shell waste by *Pseudonocardia antitumoralis* 18D36-A1. *Fermentation*. 8: 1-11.
- Wiegand, I., Hilpert, K. *and* Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc*. 3: 163-175.
- Wu Wang, K., Wang, S. W., Wu, B. *and* Wei, J. G. 2014. Bioactive natural compounds from the mangrove endophytic fungi. *Medicinal Chemistry*. 14(4): 370-391.
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B. *and* Li, M. 2021. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review. *Antibiotics*. 10(3): 318.
- Yolanda, A., Latief, M., *and* Maritsa, H. U. 2022. Isolation and identification of endophytic fungi in mangrove plant *Nypa fruticans* from Tanjung Jabung Timur, Jambi. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*. 35(2): 260-268.