

**ISOLASI BAKTERI PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER
ANTIBAKTERI DARI SEDIMEN MANGROVE WILAYAH LAMPUNG**

(Skripsi)

Oleh

**LOUSANJA DIRA SA'UDDAH
1917011016**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

ISOLATION OF ANTIBACTERIAL SECONDARY METABOLITE- PRODUCING BACTERIA FROM MANGROVE SEDIMENTS IN LAMPUNG REGION

By

LOUSANJA DIRA SA'UDDAH

Mangrove ecosystems support ecological balance that acts as a habitat for various microorganisms that have the potential to produce bioactive compounds. Bioactive compounds from microbes have the potential to be an alternative as an effective antibacterial in suppressing the level of resistance of pathogenic microbes, which is a global problem. This study aimed to obtain bacteria-producing antibacterial bioactive compounds from microbes associated with mangrove sediments. Forty-six pure cultures from mangrove sediments were successfully isolated using Nutrient Agar, Zobell Marine, and Mueller Hinton media. Antibacterial screening of the 46 isolates yielded five isolates producing bioactive compounds. Extraction of bioactive compounds from the five isolates and further tests against pathogens, only the crude extract from isolate MHLM3-P2-B1 has antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* with a powerful inhibition category. Based on TLC and FTIR analysis, the active fraction of isolate MHLM3-P2-B1 indicates the presence of alkaloid compounds. The results of gram staining and SEM observation of isolate MHLM3-P2-B1 showed that the isolate was Gram Negative bacteria and bacillus-shaped. The results showed that bacteria isolate MHLM3-P2-B1 associated with Sriminosari mangrove sediments produced antibacterial bioactive compounds. Further exploration of bioactive compounds from this isolate is expected to help develop engineering biogenesis science in obtaining compounds that benefit pharmaceutical applications.

Keywords: Mangrove Ecosystem, Bioactive Compounds, Antibacterial.

ABSTRAK

ISOLASI BAKTERI PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER ANTIBAKTERI DARI SEDIMEN MANGROVE WILAYAH LAMPUNG

OLEH

LOUSANJA DIRA SA'UDDAH

Ekosistem *mangrove* mendukung keseimbangan ekologis yang berperan sebagai habitat beragam mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai penghasil senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif dari mikroba berpotensi menjadi alternatif sebagai antibakteri yang efektif dalam menekan tingkat resistensi mikroba patogen yang menjadi permasalahan global. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri penghasil senyawa bioaktif antibakteri dari mikroba yang berasosiasi dari sedimen *mangrove*. Empat puluh enam biakan murni dari sedimen *mangrove* berhasil diperoleh dari hasil isolasi menggunakan media *Nutrient Agar*, *Zobell Marine*, dan *Mueller Hinton*. Skrining antibakteri terhadap 46 isolat tersebut memperoleh 5 isolat penghasil senyawa bioaktif. Ekstraksi senyawa bioaktif dari 5 isolat tersebut dan uji terhadap patogen, hanya ekstrak kasar dari isolat MHLM3-P2-B1 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomona aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan kategori inhibisi sangat kuat. Berdasarkan analisis KLT dan FTIR fraksi aktif dari isolat MHLM3-P2-B1 mengindikasikan adanya kandungan senyawa alkaloid. Hasil pewarnaan gram dan pengamatan SEM isolat MHLM3-P2-B1 menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah bakteri Gram Negatif dan berbentuk basil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang berasosiasi pada sedimen *mangrove* Sriminosari dengan isolat MHLM3-P2-B1 menghasilkan senyawa bioaktif antibakteri. Eksplorasi lebih lanjut senyawa bioaktif dari isolat ini diharapkan bermanfaat untuk pengembangan ilmu biogenesis rekayasa dalam menghasilkan senyawa yang memiliki manfaat dalam aplikasi dibidang farmasi.

Kata Kunci: Ekosistem Mangrove, Senyawa Bioaktif, Antibakteri.

**ISOLASI BAKTERI PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER
ANTIBAKTERI DARI SEDIMEN MANGROVE WILAYAH LAMPUNG**

Oleh

Lousanja Dira Sa'uddah

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
2023**

Judul Penelitian : ISOLASI BAKTERI PENGHASIL
METABOLIT SEKUNDER ANTIBAKTERI
DARI SEDIMEN MANGROVE WILAYAH
LAMPUNG.

Nama Mahasiswa : *Tousanja Dira Sa uddah*

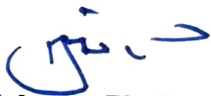
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011016

Jurusan/Program Studi : Kimia/S1

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing



Mulyono, Ph. D.
NIP. 197406112000031002



Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph. D
NIP. 195809221988111001

Mengetahui

a.n. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila



Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.** 

Sekretaris : **Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.** 

Penguji
Bukan Pembimbing : **Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.** 

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 27 Juli 2023

**LEMBAR PENYATAAN
KEASILAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lousanja Dira Sa'uddah
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011016
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul "Isolasi Bakteri Penghasil Metabolit Sekunder Antibakteri dari Sedimen Mangrove Wilayah Lampung" adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandarlampung, 27 Juli 2023
Yang Menyatakan,



Lousanja Dira Sa'uddah
NPM. 1917011016

RIWAYAT HIDUP



Lousanja Dira Sa'uddah lahir di Way Jepara pada 06 September 2000. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, putri dari pasangan Bapak Riyaldi dan Ibu Ratna Sugiani. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Bumi Pratama Mandira pada tahun 2013. Penulis melanjutkan Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP IT Baitul Muslim dan menyelesaikannya pada tahun 2016. Pendidikan Sekolah Menengah Atas diselesaikan pada tahun 2019 di SMA Negeri 1 Way Jepara. Pada tahun yang sama penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Pada tahun 2021 penulis diterima sebagai santri Rumah Quran Mahasiswa Lampung.

Penulis juga aktif di kegiatan organisasi kemahasiswaan sebagai Bendahara Badan Semi Otonom Bimbingan Belajar Quran (BSO BBQ) Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila kepengurusan 2020 dan pada tahun yang sama berkontribusi dalam PEMIRA FMIPA Unila sebagai Bendahara Pelaksana. Sekertaris BSO BBQ Rois FMIPA Unila kepengurusan 2021 dan pada tahun yang sama berkontribusi dalam kegiatan Karya Wisata Ilmiah (KWI ke-32) sebagai bendahara pelaksana. Sekretaris Dinas Pemberdayaan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM) Badan Eksekutif Mahasiswa FMIPA Unila kepengurusan 2022.

Penulis pernah mengikuti kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa-Pengabdian kepada Masyarakat sebagai anggota di desa Harapan Jaya, Kecamatan Way Ratai,

Kabupaten Pesawaran dan menghasilkan luaran berupa buku panduan dengan judul “Panduan Budidaya Lebah Tanpa Sengat (*Stingless Bee*)”. Penulis dan tim juga pernah meraih *Gold Medal* kategori *Life Science* pada kompetisi internasional *World Science, Environment and Engineering Competition 2022* dan meraih *Gold Medal* kategori *Industry 4.0* pada kompetisi internasional *Indonesia International Invention Expo 2022*.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari-Februari 2022 di desa Rajabasa Lama, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur. Pada bulan Juli-September penulis melaksanakan kegiatan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Biokimia. Pada bulan November 2022 penulis melaksanakan penelitian di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung yang di beri judul “Isolasi Bakteri Penghasil Metabolit Sekunder Antibakteri dari Sedimen Mangrove Wilayah Lampung”.

MOTTO

(Ingatlah) ketika Tuhanmu memaklumkan.
"Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), sesungguhnya azab-Ku benar-benar sangat keras."

(Q.S. Ibrahim: 7)

Berusahalah Menjadi Kunci Surga bagi Orang-Orang yang Kau Sayangi

(Penulis)



Atas izin dan keridhaan Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya serta rasa syukur yang luar biasa

Ku persembahkan karya sederhana ini sebagai wujud cinta, bakti, dan sayang ku kepada

Umiku

Ratna Sugiani Wanita tersabar dan terkuat yang penuh kasih kepadaku.

Abiku

Riyaldi, karena engkau adalah aku penuh rasa syukur dalam menghadapi segala hal.

Kedua Adikku

Fairuza Ghania dan Zhafira Shaniyyah, semoga senantiasa dalam penjagaan Allah yang terbaik

Kepada orang-orang yang telah mendukungku selama ini
Terima kasih, Aku bersyukur.

SANWACANA

Alhamdulillah puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul

Isolasi Bakteri Penghasil Metabolit Sekunder Antibakteri dari Sedimen Mangrove Wilayah Lampung

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan, namun semua itu dapat penulis lalui berkat Rahmat dan Ridha Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari orang-orang terdekat penulis. Jazakumullah khair orang-orang baik yang telah kebersamai dan memberi banyak dukungan bagi penulis. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan sehingga penulis mengharapkan adanya kritik dan saran. Selain itu, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rasulullah *Shalallahu alaihiwassalam*, manusia pertama yang merindu dan mendoakan ku, manusia yang semoga senantiasa terlintas dalam pikiran ku dan tersimpan dalam benih cinta di qolbuku sampai akhir hayat nanti.
2. Kedua orang tua ku, dan kedua adikku yang selalu memberikan doa dan dukungan baik secara materi maupun moral. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dengan Jannah-Nya yang terbaik nanti, Aamiin.
3. Bapak Mulyono, Ph.D selaku Kepala Jurusan Kimia, pembimbing I, sekaligus dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan, ilmu, nasihat serta kerabaran yang luar biasa dalam menghadapi penulis. Semoga bapak selalu dalam lindungan Allah dan semoga Allah memberikan kebaikan yang melimpah kepada bapak.

4. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D, selaku pembimbing II yang selalu memberikan ilmu dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga bapak selalu dalam lindungan Allah dan semoga Allah memberikan kebaikan yang melimpah kepada bapak.
5. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si, selaku Penguji penelitian yang telah memberikan banyak ilmu, saran, motivasi, serta kritik yang membangun kepada penulis. Semoga bapak selalu dalam lindungan Allah dan semoga Allah memberikan kebaikan yang melimpah kepada bapak.
6. Bapak dan Ibu Dosen Kimia FMIPA Unila yang telah mendidik, dan memberikan ilmu yang pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penulis. Semoga bapak dan Ibu selalu dalam lindungan Allah dan semoga Allah memberikan kebaikan yang melimpah kepada bapak dan Ibu dosen.
7. Keluarga besar Abi dan Umi yang telah memberikan dukungan moral, finansial, dan motivasi bagi penulis selama menjalankan Pendidikan di kampus.
8. Pembimbing serta rekan rekan penelitian di UPT LTSIT. Terimakasih atas bantuan dan kerja samanya selama melakukan penelitian.
9. Teman teman Peer Group Biokimia. Terimakasih selalu memberikan semangat dan motivasi
10. Seluruh teman-teman Kimia Unila Angkatan 2019.
11. Almamater tercinta, Universitas Lampung.
12. Semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terima kasih banyak atas semua bantuan dan dukungan secara tulus dan Ikhlas dalam Menyusun skripsi ini

Akhir kata, penulis memohon maaf apabila skripsi ini masih kurang dari kesempurnaan. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat sebagaimana mestinya. Aamiin Allahumma Aamiin.

Bandarlampung, Juli 2022
Penulis,

Lousanja Dira Sa'uddah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan	4
1.3. Manfaat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Ekosistem <i>Mangrove</i>	5
2.2. Mikroba Ekosistem <i>Mangrove</i>	7
2.3. Bakteri Patogen.....	8
2.4. Kultivasi Mikroba	10
2.5. Bakteri dan Uji Antibakteri.....	12
2.6. Isolasi Mikroba.....	14
2.7. Kromatografi Lapis Tipis.....	15
2.8. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>	16
2.9. Identifikasi dan Karakterisasi.....	19
III. METODE PENELITIAN	20
3.1. Waktu dan Tempat.....	20
3.2. Alat dan Bahan.....	20
3.3. Metode	21
3.3.1. Biomaterial	21
3.3.2. Isolasi Bakteri dari Sedimen <i>Mangrove</i>	21
3.3.3. Pemurnian Bakteri.....	22
3.3.4. Kultivasi Isolat Bakteri dari Sedimen <i>Mangrove</i>	22
3.3.5. Skrining Bioaktivitas Antibakteri	23
3.3.6. Kultivasi dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif	23

3.3.7. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kasar Metabolit Sekunder dengan Uji Difusi Cakram.....	24
3.3.8. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	24
3.3.9. Karakterisasi Ekstrak dengan FTIR.....	25
3.3.10. Karakterisasi Bakteri	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1. Sampel Material Sumber Isolat.....	26
4.2. Isolat Bakteri Sedimen <i>Mangrove</i>	27
4.3. Isolat Terpilih dengan Aktivitas Antibakteri terhadap Patogen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.4. Senyawa Bioaktif dari Isolat Bakteri	32
4.5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat.....	34
4.6. Kromatogram KLT Senyawa Bioaktif dari Isolat MHLM3-P2-B1.....	36
4.7. Spektrum FTIR Senyawa Bioaktif dari Isolat MHLM3-P2-B1	38
4.8. Morfologi sel Isolat Bakteri MHLM3-P2-B1	39
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1. Simpulan	42
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 1. Bilangan Gelombang Gugus Fungsi (Fessenden, 1986).....	18
2. Tabel 2. Klasifikasi Respon Zona Hambat	30
3. Tabel 3. Zona Hambat (aktivitas antibakteri) lima isolat terpilih terhadap patogen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
4. Tabel 4. Zona Hambat (aktivitas antibakteri) lima isolat terpilih terhadap patogen <i>Staphylococcus aureus</i>	31
5. Tabel 5. Berat Padatan Ekstrak Kasar dari Supernatan Kultur.....	33
6. Tabel 6. Hasil karakterisasi mikroskopis isolat MHLM3-P2-B1.....	40
7. Tabel 7. Zona Hambat (aktivitas antibakteri) 46 isolat terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55
8. Tabel 8. Analisis Spektrum IR.....	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar 1. Area sedimen <i>mangrove</i> dari lokasi sampling.	26
2. Gambar 2. Contoh pertumbuhan isolat MHLM3-P2-B1	28
3. Gambar 3. Contoh Pertumbuhan isolat bakteri MHLM3-P2-B1 pada media NB.....	33
4. Gambar 4. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	35
5. Gambar 5. Visualisasi KLT ekstrak kasar MHLM3-P2 B1	37
6. Gambar 6. Spektrum FTIR fraksi etil asetat dari isolat bakteri MHLM3-P2-B1	38
7. Gambar 7. Morfologi Isolat MHLM3-P2-B1;.....	41
8. Gambar 8. Diameter zona hambat parsial.	57
9. Gambar 9. Diameter zona bening.....	58

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ekosistem *mangrove* memiliki peran yang sangat penting di wilayah tropis dan subtropis. Lingkungan *mangrove* berada pada zona peralihan antara daratan dan lautan sehingga menciptakan zona buffer yang penting serta mampu menjadi penghalang erosi oleh angin dan ombak laut (Nathan *et al.*, 2020). Hutan yang mengalami pasang-surut ini merupakan lingkungan yang sangat produktif dengan komunitas mikroba yang kuat. Hutan *mangrove* dapat berfungsi sebagai salah satu tempat perkembangbiakan berbagai kelompok mikroorganisme seperti bakteri. Keberadaan bakteri-bakteri ini dapat ditemukan di sekitar perakaran (bakteri rizosfer) dan tanah *mangrove*. Mikroorganisme yang terdapat di sedimen laut memiliki keistimewaan kondisi ekologis dimana mikroorganisme tersebut harus mampu bersaing dengan spesies yang lain, mereka harus mampu mentolerir kondisi fisik seperti salinitas tinggi, suhu rendah, dan tekanan atmosfer tinggi. Mikroba ini memiliki mekanisme pertahanan diri yang cukup baik. Seperti halnya di hutan daratan, bakteri dalam sedimen *mangrove* memiliki peran krusial dalam ekosistem perairan dasar sebagai pengurai sisa-sisa bahan organik dan pengolah nutrisi yang sangat penting. Keberadaan organisme-organisme ini di lingkungan yang ekstrem meningkatkan potensi mereka dalam menghasilkan senyawa metabolit yang baru.

Keberadaan hutan *mangrove* di Indonesia mencapai 25% dari total luas hutan *mangrove* di dunia (Zainuddin dan Gunawan, 2014). Provinsi Lampung merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki kawasan hutan *mangrove*. Menurut Walhi (2014) provinsi Lampung memiliki luas hutan *mangrove* mencapai 3.108 ha atau sekitar 3.315 ha dari potensi luas lahan 93.938,84 ha. Desa Margasari

Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung timur merupakan salah satu daerah yang memiliki kawasan hutan *mangrove*. Hutan *mangrove* di Desa Margasari memiliki luas kurang lebih 700 ha yang berada di Pantai Timur Lampung (Lembaga Penelitian Unila., 2010). Pada tahun 2014 hutan *mangrove* Desa Margasari sudah mencapai 817,59 ha (Putra *et al.*, 2015). Dengan luas hutan *mangrove* yang mencapai ribuan hektare ini, Lampung menjadi daerah yang menjanjikan dalam penemuan mikroorganisme baru yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder.

Ekosistem *mangrove* menjadi salah satu lingkungan laut yang berpotensi sebagai penghasil senyawa bioaktif (Kumar *and* Jadeja, 2016). Ekosistem *mangrove* merupakan habitat dari beragam mikroorganisme termasuk *actinomycetes*, bakteri, jamur, *cyanobacteria*, mikroalga, makroalga, dan protozoa yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif dapat diperoleh dari berbagai sumber, seperti tumbuhan, hewan, mikroba dan organisme laut (Soamole *et al.*, 2018), termasuk berasal dari kawasan ekosistem *mangrove*. Senyawa bioaktif dari mikroba dapat diperoleh dengan membiakkan mikroba dengan mudah sehingga tidak merusak ketersediaan sumber penghasil mikroba seperti halnya tanaman. Senyawa bioaktif memiliki potensi yang besar untuk pengembangan obat dimasa depan. Senyawa bioaktif dapat digunakan sebagai alternatif pengembangan antibakteri untuk menekan tingkat resistensi (Devi *et al.*, 2012).

Resistensi mikroba patogen merupakan permasalahan global yang perlu banyak mendapatkan perhatian khusus. Resistensi bakteri terhadap antimikroba yang berkembang dengan cepat merupakan masalah yang mendesak dan lebih serius daripada infeksi jamur dan virus. Pada tahun 2050 diprediksi resistensi mikroba patogen akan membunuh 10 juta manusia jika tidak segera dilakukan tindakan penanganannya (Romano *et al.*, 2018). Meskipun resistensi bakteri tidak merata di semua spesies, *Infectious Disease Society of America* (IDSA) telah mengidentifikasi enam spesies bakteri sebagai patogen yang sangat berbahaya karena kemampuan mereka dalam mengembangkan resistensi terhadap banyak jenis obat dan tingkat patogenisitas yang tinggi (Boucher *et al.*, 2009). Spesies-spesies ini termasuk *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter sp.* yang dikenal sebagai patogen ESKAPE. Patogen ESKAPE ini sering menjadi penyebab infeksi serius atau mengancam jiwa, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, pasien yang sakit parah, dan anak-anak (Schultz *et al.*, 2020). Upaya penanganan resistensi mikroba sudah banyak dilakukan, salah satunya yaitu dengan memperoleh alternatif senyawa baru antimikroba yang mampu bekerja secara lebih efektif. Sebagian besar bakteri yang berasosiasi dengan sedimen *mangrove* dengan sifat bioaktif potensial membentuk sumber aplikasi farmasi yang berharga (Sarkar *and* Suthindhiran, 2022).

Seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Rajan *et al* (2021) didapatkan 40 strain bakteri yang berafiliasi dengan spesies *mangrove*, *Acanthus ilicifolius* dan *Avicennia ofcinalis*. Bakteri sedimen *mangrove* yang terkait dengan *A. Ilicifolius* dan *A. Ofcinalis* di dapatkan dari ekosistem *mangrove* Mangalavanam di Negara bagian Kerala India telah dievaluasi menggunakan berbagai model *in vitro* untuk penilaian sifat farmakologis. Bakteri yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan antimikroba yang signifikan diisolasi, diidentifikasi dan dikarakterisasi secara biokimia dan 16S rRNA. Salah satu bakteri yang berhasil diisolasi dari sedimen *mangrove*, *Bacillus amyloliquefaciens* MBMS5 menunjukkan aktivitas antimikroba yang signifikan terhadap berbagai bakteri patogen seperti *Aermonas caviae*, *Vibrio parahemolyticus*, dan *Staphylococcus aureus*. Bagian utama (47%) dari isolat bakteri bioaktif ditemukan milik filum *Firmicutes*. *Bacillus sp.*, salah satu dari filum *Firmicutes* yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur yang potensial (Penesyian *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi bakteri dari sedimen *mangrove* pada wilayah geografis tertentu. Wilayah geografis memiliki kondisi lingkungan yang berbeda termasuk pada perbedaan suhu, kelembaban, nutrisi, dan faktor lingkungan lainnya. Hal ini mengakibatkan keterbatasan dalam representasi keanekaragaman bakteri dan senyawa antibakteri di seluruh dunia. Berdasarkan penjelasan sebelumnya, kawasan hutan *mangrove* provinsi Lampung memiliki potensi yang besar untuk eksplorasi keberagaman bakteri sebagai penghasil metabolit sekunder antibakteri. Penelitian ini dilakukan karena mengingat

pentingnya memperoleh sumber daya alam baru sebagai potensi pengembangan ilmu dibidang farmakologis.

Berdasarkan uraian diatas, telah dilakukan eksplorasi bakteri yang berasosiasi pada sedimen *mangrove* khususnya di wilayah Lampung. Selanjutnya telah dilakukan identifikasi bakteri dan karakterisasi ekstrak etil asetat yang difokuskan pada kemampuan antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

1.2. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Mendapatkan isolat bakteri yang berasosisasi dengan sedimen *mangrove* di sekitar kawasan hutan *mangrove* Lampung.
2. Melakukan uji aktivitas antibakteri dari isolat yang diperoleh.
3. Mengkarakterisasi bioaktif ekstrak kasar isolat bakteri menggunakan KLT dan FTIR.

1.3. Manfaat

Penelitian ini akan menambah informasi mengenai adanya potensi senyawa bioaktif antibakteri pada bakteri yang berasosiasi dengan sedimen *mangrove*. Selain itu, informasi yang diperoleh dapat digunakan untuk menunjang perkembangan ilmu biogenesis rekayasa dalam menghasilkan senyawa yang memiliki manfaat dalam aplikasi dibidang farmasi

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekosistem *Mangrove*

Salah satu potensi utama pesisir Indonesia adalah ekosistem *mangrove* yang memiliki peran penting dalam menyimpan spesies dan menyediakan berbagai layanan dan jasa ekosistem. Indonesia memiliki luas tiga juta hektare area *mangrove*, menjadikan negara dengan luas *mangrove* terbesar di dunia. Hutan *mangrove* tersebar di seluruh Indonesia, dengan ekosistem regional yang penting terutama terdapat di Papua, Kalimantan, dan Sumatra (Giri *et al.*, 2011). Hutan *mangrove* selalu tergenang air saat air laut pasang dan mengalami lumpur tebal saat air laut surut (Prasetyo *et al.*, 2017). *Mangrove* adalah istilah umum untuk variasi komunitas pantai tropis yang didominasi oleh beberapa spesies pohon khas atau semak-semak (Nybakken, 1992).

Ekosistem *mangrove* atau hutan bakau tidak hanya terdiri dari pohon bakau (*Rhizophora spp*) saja, tetapi juga melibatkan keberadaan pohon, semak, liana semak, paku, dan palem bakau (Djohan *et al.*, 2015). Selain flora yang beragam, *mangrove* juga menyimpan keragaman fauna yang kaya dari berbagai tingkatan taksonomi (Noor *et al.*, 2006). Masyarakat dapat mengandalkannya sebagai sumber mata pencarian dan pangan bagi keluarga (Armitage, 2002), serta mengapresiasi nilai estetika, rekreasi, dan nilai religi dan spiritual (UNEP, 2014). (MEA, 2005) secara umum mengklasifikasikan jasa ekosistem sebagai *provisioning service* (jasa penyedia), *regulating service* (jasa pengatur), *supporting service* (jasa pendukung), dan *cultural service* (jasa kebudayaan).

Indonesia memiliki laju kerusakan *mangrove* terbesar di dunia (Campbell and Brown, 2015). Sekitar 40% hutan *mangrove* di Indonesia telah hilang dalam tiga

puluh tahun terakhir akibat konversi lahan menjadi tambak udang (Sumatera, Sulawesi, dan Jawa Timur), pertanian, atau tambak garam (Jawa dan Sulawesi), serta mengalami degradasi akibat tumpahan minyak (Kalimantan Timur) dan polusi (FAO, 2007).

Hutan *mangrove* di Indonesia memiliki luas yang cukup besar, mencakup sekitar 23% dari total ekosistem *mangrove* di seluruh dunia. Sepanjang 95.000 kilometer pesisir Indonesia, diperkirakan terdapat sekitar 3 juta hektar hutan *mangrove* (Giri *et al.*, 2011). Sayangnya, hutan *mangrove* terus mengalami penyusutan akibat tingginya tingkat pembangunan (Ghufron, 2012). Meskipun demikian, ekosistem hutan *mangrove* memiliki peran penting sebagai sumber daya alam di wilayah pesisir, baik dari perspektif sosial, ekonomi, maupun ekologis. Hutan *mangrove* berfungsi sebagai penyeimbang ekosistem dan menyediakan berbagai kebutuhan hidup bagi manusia dan makhluk hidup lainnya. Kedudukan hutan *mangrove* sebagai penghubung antara ekosistem laut dan ekosistem daratan memiliki fungsi yang tak ternilai dan tak dapat digantikan oleh ekosistem lain.

Ekosistem hutan *mangrove* terbentuk di daerah yang mengalami pelumpuran dan akumulasi bahan-bahan organik, di tempat yang terlindung dari arus dan gelombang air laut. Kondisi ekosistem *mangrove* termasuk dalam kategori ekstrem, dengan tanah yang memiliki aerasi yang kurang, kandungan garam atau salinitas yang tinggi, serta mengalami penggenangan akibat pasang surut air laut. Ekosistem *mangrove* menghasilkan senyawa organik melalui produksi serasah oleh mikroorganisme dekomposer, yang kemudian menjadi sumber makanan bagi organisme yang hidup di ekosistem *mangrove*. Hal ini membuat tanah hutan *mangrove* menjadi kaya akan bahan organik (Aida *et al.*, 2014). Aktivitas mikroorganisme tersebut tergantung pada ketersediaan karbon yang dioksidasi. Karbon, bersama dengan unsur lain seperti fosfor (P) dan nitrogen (N), melalui proses fotosintesis menghasilkan jaringan tumbuhan yang menjadi makanan bagi hewan. Ketika tumbuhan atau organisme mati dan membusuk, mereka menjadi bahan mentah untuk memulai siklus bahan organik (Romimohtarto, 2001).

Ekosistem *mangrove* memiliki peran penting dalam menjaga stabilitas garis pantai, melindungi pantai dari erosi, berfungsi sebagai peredam badai dan gelombang, serta

berperan sebagai perangkap sedimen. Selain itu, *mangrove* juga memiliki peran krusial dalam menjaga keseimbangan siklus biologi di perairan. Jika ekosistem *mangrove* mengalami kerusakan atau hilang, fungsi-fungsinya, terutama sebagai perangkap sedimen, juga akan terganggu. Kerusakan pada ekosistem *mangrove* akan menyebabkan hilangnya tempat hidup bagi mikroorganisme dalam sedimen, sehingga populasi mikroorganisme akan menurun. Mikroorganisme ini memiliki peran penting dalam pemulihan produktivitas, konservasi, dan keberlanjutan lingkungan, serta terlibat dalam siklus biogeokimia dan menjadi sumber energi bagi organisme hewan dan tumbuhan. Karakteristik sedimen dalam ekosistem *mangrove* bervariasi, termasuk sedimen berpasir dan lumpur berpasir. Formasi hutan *mangrove* khas daerah tropis dan sedikit subtropis terdapat di pantai rendah yang tenang, dengan kondisi berlumpur, sedikit mengandung pasir, dan dipengaruhi oleh pasang surut air laut (Arief, 2003).

2.2. Mikroba Ekosistem *Mangrove*

Hutan *mangrove* merupakan ekosistem kompleks yang menjadi habitat bagi beragam kelompok mikroorganisme, termasuk *actinomyces*, bakteri, jamur, *cyanobacteria*, mikroalga, makroalga, dan protozoa. Mikroorganisme ini memiliki peran yang sangat penting sebagai pengurai dalam sedimen. Mikroba yang hidup dalam sedimen memiliki peran krusial dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman, karena mereka mampu mengikat nitrogen (N_2) dari udara dan mengubah amonium menjadi nitrat. Aktivitas mikroba ini bertanggung jawab atas transformasi nutrisi utama dalam ekosistem *mangrove* (Widhitama *et al.*, 2016).

Bakteri dan jamur membentuk sekitar 91% dari total biomassa mikroba dalam komunitas mikroba *mangrove* tropis, sedangkan alga dan protozoa masing-masing hanya menyumbang sekitar 7% dan 2%. Meskipun ekosistem *mangrove* memiliki keragaman mikroba yang luas, hanya sebagian kecil dari komunitas mikroba yang telah diidentifikasi, dengan jumlah kurang dari 1%. Artinya, sekitar 99% mikroorganisme dalam ekosistem *mangrove* masih belum ditemukan. Kurang dari

5% spesies mikroba yang telah diisolasi saat ini telah dianalisis secara kimiawi, dan termasuk dalam kelompok *actinomyces*, bakteri, dan jamur (Thatoi *et al.*, 2013).

Bukti-bukti menunjukkan bahwa banyak senyawa yang sebelumnya ditemukan dalam *mangrove* berasal dari mikroorganisme yang hidup terikat dengan tanaman inangnya atau secara aktif diproduksi oleh tanaman tersebut. Mikroorganisme endofit yang umum ditemukan dalam ekosistem *mangrove* adalah endofit jamur dan bakteri. Secara umum, senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi memiliki sifat bioaktif terhadap sel dan mikroorganisme tertentu. Struktur metabolit sekunder pada mikroba sangat beragam, dan fungsinya sebagian besar terkait dengan pertahanan terhadap mikroorganisme lainnya (Sun *et al.*, 2009).

Menurut Radhakrishnan *et al* (2010) endofit jamur *mangrove* menghasilkan sejumlah besar senyawa antibiotik, antikanker, antidiabetes, antioksidan, antivirus, obat antiinflamasi, dan immunosupresif, bersama dengan agen farmasi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme dalam ekosistem *mangrove* memiliki potensi besar dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat memiliki aplikasi dalam bidang kesehatan dan farmasi.

2.3. Bakteri Patogen

Bakteri berasal dari kata Latin *bacterium* (jamak: *bacteria*) dan merupakan kelompok organisme hidup yang paling melimpah. Bakteri memiliki ukuran sangat kecil (mikroskopis) dan sebagian besar merupakan organisme uniselular (bersel tunggal). Struktur sel bakteri relatif sederhana, tanpa nukleus atau inti sel, sitoskeleton, mitokondria, atau kloroplas.

Berdasarkan kemampuan menyebabkan penyakit, bakteri dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu patogen dan apatogen. Bakteri patogen adalah bakteri yang mampu menyebabkan penyakit melalui invasi langsung atau kontaminasi makanan. Sementara itu, bakteri apatogen tidak memiliki potensi untuk menyebabkan penyakit, bahkan beberapa diantaranya dapat memberikan manfaat bagi manusia. Selain itu, berdasarkan kebutuhannya terhadap oksigen, bakteri dibagi menjadi tiga

kelompok: aerob, anaerob, dan fakultatif anaerob. Mikroorganisme aerob adalah organisme yang dapat hidup baik dalam keberadaan oksigen maupun tanpa oksigen sama sekali (Sarastani *et al.*, 2002).

Di bawah ini adalah contoh bakteri patogen

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan contoh bakteri patogen yang dapat hidup di lingkungan dengan rentang konsentrasi gram yang tinggi dan toleran terhadap konsentrasi NaCl sekitar 3 Molar. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan sekitar 0,47 jam (Prescott *et al.*, 2002).

Menurut Jawets (2013) klarifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Famili : Mircrocceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : ***Staphylococcus aureus***

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah jenis bakteri Gram negatif aerob obligat yang memiliki flagela polar, bersifat motil, dan memiliki ukuran sekitar 0,5-1,0 µm (Toyofuku *et al.*, 2011). Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi seperti dermatitis, folikulitis, otitis eksternal, infeksi mata, dan infeksi luka bakar. Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan infeksi pada saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lainnya. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mencakup lebih dari 30% dari semua penyebab bakteri.

Menurut Toyofuku *et al.*, (2011) klarifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut.

Divisi : Bacteria
 Kelas : Gamma Protobacteria
 Bangsa : Pseudomonadales
 Suku : Pseudomonadaceae
 Marga : Pseudomonas
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

3. *Escherichia coli*

E.coli adalah jenis bakteri Gram negatif yang termasuk dalam kelompok *enterobakteria*. Bakteri ini dapat ditemukan dalam usus mamalia, termasuk manusia, dan berperan dalam proses pencernaan. Beberapa strain *E.coli* bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, gastroenteritis, dan infeksi pada sistem pernapasan. Klasifikasi *E.coli* sebagai berikut :

Domian : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Enterobacterales
 Famili : Enterobacteriaceae
 Genus : Escherichia
 Spesies : *Escherichia coli*

2.4. Kultivasi Mikroba

Bakteri diisolasi dari sedimen *mangrove* menggunakan medium fermentasi dengan komposisi tertentu, pemisahan satu jenis bakteri dari bakteri lain yang beragam pada sedimen *mangrove* dapat dilakukan dengan mengisolasi bakteri hingga menghasilkan isolat murni. Metode pemisahan mikrobaini biasanya menggunakan

media padat, dimana sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap berada pada tempatnya.

Kultivasi adalah kegiatan untuk meningkatkan jumlah mikroorganisme dalam suatu medium biakan. Dalam hal ini, bakteri yang sudah ada dalam media inokulum akan diperbanyak melalui kultivasi. Kultur mikroba digunakan untuk menentukan jenis dan kelimpahan organisme dalam sampel uji. Media kultivasi harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya.

Fermentasi adalah proses metabolisme yang terjadi pada substrat organik melalui aktivitas enzim. Pada mikroorganisme, fermentasi menjadi langkah utama dalam produksi *adenosine triphosphate* (ATP) dengan mendegradasi nutrisi organik secara anaerobik melalui proses fosforilasi oksidatif. Fosforilasi oksidatif menggunakan molekul seperti O_2 , NADH, dan asam piruvat untuk menghasilkan ATP. Selama proses ini, elektron ditransfer dari donor elektron ke serangkaian akseptor melalui reaksi redoks yang menghasilkan oksigen. Reaksi ini melepaskan sebagian dari total energi yang dihasilkan. Pada prokariotik, berbagai zat digunakan untuk menyumbangkan atau menerima elektron dalam proses fosforilasi oksidatif, memungkinkan prokariota tumbuh dalam berbagai kondisi lingkungan. Kondisi aerobik akan menggunakan enzim oksidase dengan afinitas rendah terhadap oksigen yang mengangkut dua proton elektron. Namun, dalam kondisi anaerobik, enzim oksidase akan kembali mentransfer satu elektron dengan afinitas tinggi terhadap oksigen.

Kondisi kultivasi dapat dilakukan secara statis atau dinamis menggunakan shaker. Meskipun kedua kondisi ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam hal dekomposisi media tumbuh, kondisi statis dapat menyebabkan penurunan berat yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan shaker. Kondisi statis memungkinkan lapisan miselium eksternal terbentuk lebih cepat, sehingga jumlah senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan lebih tinggi. Hal ini disebabkan oleh pengaruh konsentrasi oksigen yang langsung bersentuhan dengan mikroorganisme. Konsentrasi oksigen yang tinggi dapat mempercepat pertumbuhan mikroorganisme arena peran pentingnya dalam penyerapan nutrisi.

Lingkungan fisik memainkan peran penting dalam kultivasi mikroba, oleh karena itu, beberapa faktor perlu diperhatikan saat menumbuhkan mikroba, seperti suhu, pH, konsentrasi oksigen, dan tekanan osmosis. Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroba dalam media kultur.

2.5. Bakteri dan Uji Antibakteri

Bakteri termasuk dalam golongan organisme prokariotik yang tidak memiliki selubung inti. Mereka memiliki DNA sebagai materi genetik, tetapi DNA tersebut tidak terlokalisasi dalam sebuah nukleus yang khusus dan tidak dilindungi oleh membran inti. DNA bakteri memiliki bentuk sirkuler yang panjang dan biasa disebut sebagai nukleoid (Brooks *et al.*, 2013).

Bakteri dapat dibedakan menjadi dua golongan berdasarkan pewarnaan Gram, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Perbedaan antara kedua golongan bakteri ini terletak pada respon lipid mereka terhadap pencucian dengan alkohol, struktur pori pada dinding sel, dan permeabilitas dinding sel terhadap zat warna.

Pada bakteri Gram negatif, lipidnya akan larut selama proses pencucian dengan alkohol, pori-pori dinding sel membesar, dan permeabilitas dinding sel menjadi lebih besar. Akibatnya, zat warna yang tidak diserap dengan mudah dilepaskan, dan bakteri menjadi tidak berwarna,

Sementara itu, pada bakteri Gram positif, proses pencucian dengan alkohol akan menyebabkan denaturasi protein pada dinding sel, pori-pori dinding sel mengecil, dan permeabilitasnya berkurang. Akibatnya, kompleks ungu kristal iodine tetap terjaga dan sel bakteri tetap berwarna ungu. Contoh bakteri Gram positif meliputi *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, sementara contoh bakteri Gram negatif meliputi *Escherichia coli* dan *Pseudomonas*.

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan biasanya ditemukan sebagai metabolit sekunder dalam organisme. Secara umum, senyawa antibakteri bekerja dengan merusak dinding sel bakteri,

mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, atau menghambat kerja enzim. Pengujian antibakteri adalah teknik yang digunakan untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi senyawa tersebut dapat memberikan efek terhadap mikroorganisme. Salah satu metode pengujian antibakteri adalah uji skrining ekstrak fungi menggunakan metode dilusi, dimana konsentrasi hambat minimum (KHM) dari sampel antibakteri terhadap bakteri uji ditentukan. KHM merupakan konsentrasi (dinyatakan dalam mg/L) dari senyawa antibakteri dimana pertumbuhan bakteri dapat dicegah sesuai dengan kondisi yang telah ditentukan (Wiegand *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini, pertumbuhan bakteri diamati dengan menggunakan alat *Hospitex Diagnostics* dan diukur melalui kekeruhan media. Perubahan dari keadaan media yang awalnya bening menjadi keruh pada metode dilusi cair menunjukkan pertumbuhan bakteri. Parameter yang digunakan dalam metode ini adalah tingkat kekeruhan yang diukur menggunakan *Optical Density* (OD), yang merupakan perbandingan kerapatan pertumbuhan bakteri dengan blanko (Pratiwi *et al.*, 2015). Sebelum melakukan pengujian, suspensi bakteri pada panjang gelombang 600nm harus sesuai dengan standar Mc-Farland 0,5 (0,08-0,1) sebagai indikasi bahwa bakteri siap untuk digunakan dalam pengujian. Untuk meningkatkan metode mikrodilusi, dilakukan penambahan *resazurin* sebagai indikator redoks. Uji reduksi *resazurin* merupakan metode yang ekonomis dan tidak beracun bagi sel pada konsentrasi rendah, serta memiliki waktu inkubasi yang singkat (<4 jam) (Gloeckner *et al.*, 2001). Sel bakteri aktif akan mereduksi senyawa *resazurin* yang awalnya *non-fluoresen* (biru) menjadi *resorufin* yang *fluoresen* (merah muda) (O'Brien, 2000). Sinyal *fluoresen* yang kuat kemudian diukur menggunakan spektrofotometer untuk memberikan penilaian komprehensif terhadap aktivitas metabolik selular dalam populasi sel. Dengan demikian, penggunaan *resazurin* dan pengukuran *fluoresensi* menjadi cara yang efektif dalam mengevaluasi aktivitas metabolik bakteri dalam penelitian ini.

Aktivitas antimikroba dapat diartikan sebagai kemampuan zat aktif untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme, mencegah pembentukan koloni mikroba, dan bahkan menghancurkan mikroorganisme. Menurut Peterbauer *et al.*,

(2002), aktivitas antimikroba terjadi ketika zat aktif tersebut memiliki efek negatif pada vitalitas mikroorganisme. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antimikroba dapat dibagi menjadi dua kategori. Pertama, antimikroba yang mampu untuk sementara waktu menghambat pertumbuhan populasi bakteri tertentu tanpa menghancurkan populasi secara signifikan atau tanpa mengizinkan mereka berkembang biak secara signifikan. Jenis antimikroba ini dikenal sebagai bakteriostatik. Kedua, antimikroba yang memiliki aktivitas germisidal yang signifikan, yaitu kemampuan untuk membunuh mikroorganisme secara efektif. Kategori ini disebut sebagai bakterisida (Kementerian Kesehatan RI., 2011). Pada penelitian ini dilakukan uji antimikroba menggunakan uji antibakteri. Uji antibakteri merupakan metode yang digunakan untuk menguji potensi atau konsentrasi suatu zat dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dalam konteks penelitian ini, uji antibakteri akan digunakan untuk mengevaluasi senyawa yang diuji dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

2.6. Isolasi Mikroba

Isolasi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi atau menguraikan suatu zat tertentu. Kegiatan isolasi dilakukan dengan memisahkan mikroorganisme yang akan diuji dari mikroorganisme lainnya menggunakan teknik selektif. Tujuannya adalah untuk memperoleh kultur murni atau biakan tunggal dari mikroorganisme yang ditargetkan. Dalam proses isolasi, digunakan media selektif yang dirancang khusus untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu. Media selektif ini mengandung nutrient-nutrient spesifik yang dibutuhkan oleh mikroorganisme target agar dapat tumbuh dan berkembang. Penggunaan media selektif memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme yang diinginkan, sementara mikroorganisme lain yang tidak diinginkan akan terhambat pertumbuhannya.

Terdapat beberapa teknik isolasi yang umum digunakan, antara lain :

1. Sebar (*spread-plate*): pada teknik ini, sampel yang mengandung mikroorganisme diencerkan dan kemudian diletakkan di atas media padat.

Sampel kemudian diusap secara merata menggunakan alat steril untuk mendistribusikan mikroorganisme di seluruh permukaan media. Media kemudian diinkubasi untuk pertumbuhan koloni mikroorganisme.

2. Tuang (*pour-plate*): pada teknik ini, sampel yang mengandung mikroorganisme diencerkan dan dicampur dengan media cair yang kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Campuran tersebut kemudian dibiarkan hingga media membeku, sehingga mikroorganisme terperangkap di dalam media padat membentuk koloni.
3. Gores (*streak-plate*) : teknik ini dilakukan dengan cara menggoreskan sampel yang mengandung mikroorganisme pada permukaan media padat menggunakan alat gores steril. Goresan pertama dilakukan di satu area, kemudian dilanjutkan dengan goresan-goresan berikutnya yang membentuk pola tertentu. Pola ini memungkinkan pertumbuhan koloni mikroorganisme yang terisolasi dan terpisah satu sama lain (Sherman, 2002).

2.7. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran berbagai komponennya. Prinsip dasar kromatografi terletak pada perbedaan afinitas yang terjadi antara fase gerak dan fase diam, mengakibatkan partisi diferensiasi dari komponen analit. Dalam kromatografi, sampel dimasukkan ke dalam saluran pembawa yang terdiri dari fase diam, sedangkan fase gerak akan mentransportasikan komponen sampel yang bersentuhan dengan fase diam. Interaksi yang berbeda antara komponen sampel dan fase diam menyebabkan pergerakan sampel melalui sistem dengan kecepatan dan waktu retensi yang berbeda (Lundanes, 2013).

Terdapat beberapa jenis kromatografi, antara lain kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, kromatografi penukar ion, kromatografi gas, dan kromatografi afinitas.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kromatografi yang digunakan untuk memisahkan dan mendeteksi sampel berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Prinsip KLT terletak pada distribusi senyawa antara fase gerak

(eluen) dan fase diam. Biasanya, KLT dilakukan pada plat kaca yang dilapisi dengan silika sebagai fase diam yang bersifat sangat polar, sedangkan fase gerak terdiri dari campuran pelarut yang kurang polar. Untuk menentukan pelarut yang digunakan, variasi polaritas pelarut perlu dilakukan.

Pengukuran faktor retensi (R_f) diukur dari noda yang terbentuk pada plat kaca. Nilai R_f diperoleh dari perbandingan jarak yang ditempuh oleh noda (komponen) dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Perbedaan kepolaran antara dua senyawa akan menghasilkan nilai R_f yang lebih tinggi untuk senyawa yang kurang polar, sementara senyawa yang bersifat polar akan tertahan pada daerah spot terbawah (Sanjeet *et al.*, 2013).

2.8. Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Fourier Transform Infrared Spectroscopy atau FTIR adalah teknik spektroskopi yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara molekul dan radiasi inframerah. Metode ini berdasarkan pada prinsip bahwa molekul akan menyerap energi inframerah pada panjang gelombang tertentu, yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mempelajari struktur molekuler. Prinsip kerja FTIR menggunakan interferometri *Fourier* untuk menghasilkan spektrum inframerah. Sampel ditempatkan di dalam alat FTIR, dan sinar inframerah yang dipancarkan melalui sampel. Interaksi antara sinar inframerah dan molekul dalam sampel menyebabkan adanya serapan energi oleh molekul tersebut. Serapan ini direkam oleh interferometer *Fourier* dan diubah menjadi spektrum inframerah.

Identifikasi gugus fungsi dalam spektrum FTIR melibatkan analisis serapan energi inframerah oleh vibrasi karakteristik gugus fungsi dalam sampel. Puncak-puncak yang muncul dapat memberikan petunjuk tentang sifat ikatan dan lingkungan kimia gugus fungsi. Serapan gugus fungsi tunggal umumnya akan menghasilkan puncak tunggal atau beberapa puncak kecil dengan intensitas yang serupa. Gugus fungsi yang lebih kompleks dapat menghasilkan pola puncak yang lebih rumit. Spektrum FTIR terdiri dari beberapa daerah yang mencerminkan berbagai jenis vibrasi molekuler.

Daerah panjang gelombang tinggi ($4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$) merupakan daerah yang dikenal sebagai daerah *fingerprint* karena puncak-puncak serapan disini khas dan spesifik untuk setiap senyawa. Pada daerah ini, terjadi vibrasi ikatan yang lebih kuat dan kompleks, seperti vibrasi ikatan rangkap, vibrasi gugus fungsi kompleks, dan mode vibrasi tingkat tinggi. Daerah panjang gelombang menengah ($2500\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$) dikenal sebagai daerah region fungsional karena sering mengandung serapan dari gugus fungsi yang umum dalam senyawa organik. Beberapa serapan yang umum di sini adalah serapan C-H *stretching*, serapan O-H *stretching*, serapan N-H *stretching*, dan serapan C=O *stretching*. Pada daerah ini, puncak-puncak serapan sering kali kuat dan mudah terlihat. Daerah panjang gelombang rendah ($1500\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) dikenal sebagai daerah region *fingerprint* rendah atau daerah region pengidentifikasi gugus. Pada daerah ini, terjadi serapan yang berkaitan dengan vibrasi gugus kompleks, seperti ikatan C-C, ikatan C-N, ikatan C-O, dan vibrasi bending dari gugus-gugus fungsi tertentu. Daerah ini dapat memberikan informasi tentang struktur molekuler yang lebih rinci dan identifikasi gugus-gugus fungsi yang spesifik. Berikut adalah tabel yang menampilkan beberapa contoh gelombang bilangan gugus fungsi yang sering terlihat dalam spektrum FTIR.

Tabel 1. Bilangan Gelombang Gugus Fungsi (Fessenden, 1986).

No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Keterangan Pita Serapan
1	C=C	1600-1700	Absorpsi pita serapan beranekaragam. Ikatan karbon aril akan menunjukkan resapan pada frekuensi lebih rendah ke kanan
2	C-C	1450-1600	Pita serapan lemah
3	C ≡ C	2100-2250	Pita serapan lemah, namun memiliki karakteristik tertentu
4	CX	500-1430	Memerlukan informasi tambahan karena sulit diidentifikasi
5	OH	3000-3700	Pita melebar
6	C-O atau C-N	900-1300	Pita sulit teridentifikasi karena sering bermunculan berbagai macam peak
7	Aldehida	1720-1740	Terdapat dua pita khas runcing dengan intensitas yang lemah dan peak dapat tersembunyi oleh serapan CH lain yang tumpang tindih
8	Keton	1705-1750	Uluran memiliki intensitas kuat
9	Asam Karboksilat	1700-1725	Pita khas dan miring ke dalam pita absorpsi CH alifatik
10	Ester	1735-1750	Memiliki pita CO seperti eter dengan intensitas kuat
11	N-H	2852-2922	Absorpsi bervariasi, -NH ₂ tampak seperti peak kembar, namun -NH muncul sebagai satu peak dan jika -N tidak terdapat peak yang muncul

2.9. Identifikasi dan Karakterisasi

Bakteri mempunyai beragam karakteristik yang berbeda, untuk mempelajari dan memahami bakteri dalam kelompok tertentu, diperlukan proses identifikasi yang melibatkan pencarian ciri-ciri pada organisme yang belum diketahui dan membandingkannya dengan organisme yang telah diketahui sebelumnya. Identifikasi mikroorganisme yang baru diisolasi membutuhkan tingkat detail, deskripsi, dan perbandingan yang jelas dengan deskripsi yang telah dipublikasikan sebelumnya untuk mikroorganisme serupa (Chan, 1989).

Pendekatan morfologi melibatkan pengamatan terhadap bentuk koloni, struktur koloni, bentuk sel, ukuran sel, dan pewarnaan bakteri. Pengamatan morfologi dapat dibagi menjadi dua, yaitu pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati bagian-bagian yang terlihat dengan mata telanjang, seperti bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, dan permukaan koloni. Sementara itu, pengamatan mikroskopis digunakan untuk melihat pergerakan, pembelahan biner, serta bentuk dan ukuran sel secara alami. Namun fiksasi panas dan proses pewarnaan dapat menyebabkan beberapa perubahan (Irianto, 2006).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2022 sampai dengan Mei 2023 di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, Erlenmeyer, spatula, aluminium foil, kapas, kasa, gunting, statif, mikrotip, microtube 1,5 mL, IWAKI 96-well microplate, plat silika gel 60 F254 MERCK, alas labu bulat, plastik wrap, pinset, jarum ose bulat, pemanas bunsen, *autoclave* Tomy SX700, *rotary evaporator* Buchi R-210, *laminar air flow* ESCO/AVC4A1, mikroskop Axio Zeiss A1, alat saring, hot plate, lemari asam, neraca analitik Wigen Houser, lemari pendingin, magnetic stirrer, *Hospitex diagnostics*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sedimen *mangrove* dari kawasan ekosistem *mangrove* wilayah Lampung (Labuhan Maringgai Lampung Timur dan Wahyuni Mandira), *yeast extract*, *pepton water*, *Zobell Marine*, *Mueller Hinton*, Agar, akuades, NaCl, spirtus, alkohol 70%, NaOH, HCl pekat, etil asetat, metanol teknis, metanol 12,5%, n-heksana teknis, *chloramphenicol*, dan patogen bakteri resisten (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*).

3.3. Metode

3.3.1. Biomaterial

Pada penelitian ini sampel sedimen *mangrove* diambil secara acak pada tiga titik koordinat Kawasan Hutan *Mangrove* Labuhan Maringgai, Lampung Timur dan satu titik koordinat Kawasan *Mangrove* desa Wahyuni Mandira, Kecamatan Sungai Menang Ogan Komering Ilir Sumatera. Pengambilan sedimen *mangrove* dilakukan dengan menggunakan sendok steril, kemudian dimasukkan ke dalam plastik sampel untuk mencegah kontaminasi. Selanjutnya sampel tersebut ditempatkan dalam *cool box* dengan suhu 4°C dan dibawa ke laboratorium untuk proses isolasi (Liu *et al.*, 2014).

3.3.2. Isolasi Bakteri dari Sedimen *Mangrove*

Proses isolasi bakteri dilakukan berdasarkan metode yang telah dijelaskan oleh (Ambeng *et al.*, 2019) dengan beberapa modifikasi. Isolasi dimulai dengan pengenceran sedimen *mangrove* hingga mencapai 10^{-7} , pengenceran yang digunakan yaitu rentang antara 10^{-5} hingga 10^{-7} . Sebanyak 1 gram sedimen *mangrove* dimasukkan ke dalam 10 mL akuades steril. Kemudian, diambil 1 mL larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril, dan langkah ini diulang hingga mencapai pengenceran 10^{-7} . Selanjutnya, campuran di dalam tabung reaksi dikocok secara merata, dan diambil 100 μ L dari campuran tersebut untuk ditanam pada media NA, *Zobell Marine*, dan *Mueller Hinton* yang telah ditambahkan NaCl (1% b/v). Setelah itu, cawan petri yang berisi media tersebut diinkubasi selama 3 hari pada suhu 34°C. Setelah proses inkubasi, dilakukan pemilihan isolat yang memiliki perbedaan morfologi koloni. Isolat-isolat tersebut kemudian dipilih dan disimpan pada media Agar yang baru di dalam cawan petri.

3.3.3. Pemurnian Bakteri

Setelah mendapatkan koleksi isolat bakteri, isolat-isolat tersebut dimurnikan menggunakan teknik gores secara berulang pada media NA, *Zobell Marine*, dan *Mueller Hinton* yang baru. Proses pemurnian ini dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan koloni bakteri yang memiliki morfologi yang berbeda, sehingga dapat diperoleh isolat tunggal. Pada setiap tahap pemurnian, pengamatan terhadap morfologi koloni dilakukan secara teratur setiap hari. Jika masih terdapat pertumbuhan koloni yang memiliki perbedaan secara makroskopik, maka dilakukan pengulangan teknik gores hingga diperoleh isolat tunggal yang diinginkan. Dengan melakukan proses pemurnian berulang ini, diharapkan isolat-isolat bakteri yang diperoleh memiliki kemurnian yang lebih tinggi dan dapat dianalisis secara lebih spesifik untuk tahapan selanjutnya.

3.3.4. Kultivasi Isolat Bakteri dari Sedimen *Mangrove*

Dalam memproduksi metabolit sekunder, isolat bakteri dikultivasi pada media cair sesuai dengan ketentuan yang telah ditetapkan oleh (Zheng *et al.*, 2005) dengan beberapa modifikasi. Pertama-tama, media *Nutrient Broth* (NB) yang mengandung NaCl 1 % disiapkan. Media tersebut dipanaskan hingga mencapai titik didih dan kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, sebanyak 1-2 ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media cair yang telah disiapkan. Proses inokulasi dilakukan dengan memindahkan isolat bakteri ke dalam media menggunakan teknik aseptik. Setelah inokulasi, media tersebut diinkubasi selama 1 hari pada suhu 34°C untuk memfasilitasi pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder. Tahapan ini merupakan tahap awal dalam mengkultivasi bakteri dengan tujuan untuk memproduksi metabolit sekunder yang akan digunakan dalam tahapan selanjutnya.

3.3.5. Skrining Bioaktivitas Antibakteri Isolat

Aktivitas antibakteri isolat dianalisis terhadap bakteri patogen, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan uji spot overlawn pada *Mueller Hinton* Agar yang mengandung NaCl (1% b/v) berdasarkan metode yang dijelaskan oleh (Chakraborty *et al.*, 2016). Pada uji ini, sebanyak 50 μ L bakteri patogen diinokulasikan pada media *Mueller Hinton* menggunakan batang spreader. Selanjutnya, kertas cakram yang direndam dengan inokulum bakteri pada medium *Nutrient Broth* (NB) ditempatkan di atas media *Mueller Hinton* yang telah diinokulasi. Setelah itu, inkubasi dilakukan selama 3 hari pada suhu 34°C. Dalam interval 24 jam, diameter zona hambat yang terbentuk disekitar cakram diamati dan dicatat. Zona hambat ini mencerminkan aktivitas antibakteri mikroba terhadap bakteri patogen yang diuji. Isolat bakteri yang menunjukkan zona hambat dengan diameter paling besar akan dipilih untuk tahap karakterisasi lebih lanjut. Pemilihan isolat dengan zona hambat yang lebih besar menunjukkan potensi aktivitas antibakteri yang lebih kuat, sehingga isolat tersebut menjadi fokus pada tahapan selanjutnya.

3.3.6. Kultivasi dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Isolat Bakteri Terpilih

Setelah didapatkan isolat terpilih, dilakukan proses kultur pada media cair yang sesuai seperti yang dijelaskan pada tahap 3.3.4. Setelah proses kultur, supernatant dipisahkan dari kultur menggunakan sentrifugasi. Supernatant kultur tersebut kemudian diekstrak menggunakan etil asetat (EtOAc). Hasil dipekatkan dengan evaporator dari *Heidolph, Schwabach* Jerman dengan tekanan 123 mbar, sehingga diperoleh ekstrak kasar. Selanjutnya ekstrak kasar yang diperoleh dari sampel etil asetat digunakan untuk melakukan uji skrining bioaktivitas guna mengetahui potensi keaktifan dari sampel tersebut, mengacu pada metode yang telah ditetapkan oleh (Zheng *et al.*, 2005). Uji skrining bioaktivitas ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya aktivitas biologis dalam ekstrak kasar tersebut.

3.3.7. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kasar Metabolit Sekunder dengan Uji Difusi Cakram

Metode difusi cakram digunakan untuk mengevaluasi kerentanan bakteri patogen terhadap ekstrak bakteri dengan modifikasi tertentu, mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Chakraborty *et al.*, (2014). Dalam penelitian ini, bakteri patogen yang diujikan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dimana patogen yang resisten digunakan sebagai kontrol uji. Pada proses ini, supernatant dari ekstrak bakteri dipersiapkan dengan konsentrasi tertentu. Selanjutnya, supernatant tersebut diuji terhadap bakteri patogen menggunakan metode difusi cakram. Sebagai kontrol, digunakan cakram yang telah direndam dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif, sedangkan cakram yang direndam dengan metanol digunakan sebagai kontrol negatif.

3.3.8. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setelah proses ekstraksi pada tahap 3.3.6, sampel senyawa terpilih kemudian diuji menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan plat silika F254 sebagai fase diam. Variasi pelarut yang digunakan meliputi diklorometan (DMC), metanol (MeOH), etilasetat (EtOAC), heksana, dan isopropyl alkohol (IPA) sebagai fase gerak. Pada tahap ini, senyawa yang mengandung ikatan konjugasi dapat dideteksi menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Selain itu, visualisasi senyawa organik dilakukan dengan menggunakan pereaksi umum seperti serium sulfat. Untuk mendeteksi senyawa alkaloid atau N-tercier, digunakan pereaksi khusus seperti Dragendorff. Sementara itu, ninhydrin digunakan sebagai pereaksi untuk mendeteksi adanya gugus amin dan ikatan peptida dalam senyawa. Nilai Rf (*Retardation Factor*) dari masing-masing komponen dihitung untuk mengetahui tingkat kepolaran senyawa. Setelah dilakukan uji KLT, supernatant yang telah diuji kemudian dipartisi menggunakan corong pisah dengan pelarut yang sesuai. Fraksi yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan vakum rotary evaporator pada suhu 40°C dan

tekanan yang sesuai. Supernatant dipilih berdasarkan hasil partisi dan dipisahkan berdasarkan polaritasnya, yakni menjadi fraksi polar dan non-polar.

3.3.9. Karakterisasi Ekstrak dengan FTIR

Ekstrak kasar dari isolat terpilih ditempatkan dalam tempat sampel pada FTIR Cary 630 (*Agilent, Santa Clara, CA, United States*) dan dianalisis dalam rentang 500-4000 cm^{-1} , mengikuti metode yang telah dilaporkan oleh (*Avilala and Golla, 2019*). Karakterisasi FTIR digunakan untuk bisa menganalisis gugus fungsi yang terdapat dalam setiap ekstrak etil asetat bakteri. Penggunaan FTIR ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh *Widyastuti et al., (2022)*. Analisis ini bertujuan untuk mendapatkan informasi yang lebih rinci tentang komposisi kimia dan struktur molekul dari ekstrak etil asetat bakteri yang telah diisolasi.

3.3.10. Karakterisasi Bakteri

Isolat terpilih yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sekunder antibakteri terbaik selanjutnya akan diidentifikasi morfologinya menggunakan pewarnaan Gram dan karakteristik lainnya berdasarkan pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Pewarnaan Gram akan memberikan informasi mengenai karakter Gram positif dan Gram negatif, sedangkan identifikasi berdasarkan manual tersebut akan memberikan informasi tentang morfologi sel, ukuran, dan susunan bakteri. Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis, digunakan mikroskop Axio Zeiss A1P dengan beberapa modifikasi. Isolat bakteri yang telah diisolasi pada media NA, *Zobell Marine*, dan *Mueller Hinton* akan diamati di bawah mikroskop untuk mengamati struktur miselia. Karakteristik morfologi ini akan digunakan untuk mengidentifikasi jenis mikroba yang terlibat.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Ekosistem sedimen *mangrove* Sriminosari, Lampung Timur dan Wahyuni Mandira berpotensi menghasilkan jenis bakteri dengan jumlah isolat yang diperoleh sebanyak 46 isolat. Inokulum lima isolat diantaranya MHLM3-P2-B1; MHLM3-P3-B1; MHLM3-P3-B2; MHW1-P1-B1; dan MHW1-P2-B1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat parsial berturut-turut (30;30;30;30;25)mm dan isolat MHLM3-P2-B1; MHLM3-P3-B1; MHLM3-P3-B2 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona bening berturut-turut (20;18;18)mm.
2. Hasil skrining antibakteri fraksi etil asetat melalui metode difusi cakram menunjukkan ekstrak kasar (*crude*) isolat MHLM3-P2-B1 memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat sebesar 20 mm dan memiliki daya hambat terhadap *S.aureus* sebesar 25 mm pada konsentrasi 5000 ppm.
3. Hasil karakterisasi KLT dan FTIR isolat MHLM3-P2-B1 menunjukkan bahwa isolat terindikasi mengandung senyawa alkaloid.
4. Isolat MHLM3-P2-B1 diduga memiliki kemiripan morfologi dengan *Chromobacterium*.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut dengan menggunakan LCMS-MS untuk mengetahui struktur senyawa bioaktif.
2. Perlu dilakukan analisis Filogenetik untuk membuktikan jenis bakteri yang diduga dalam analisis mikroskopik.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Campbell and B. Brown. (2015). Indonesia's Vast *Mangroves* are a Treasure Worth Saving. *Conversat*.
- Ambeng, Zubair, H., Oka, N. P., & Tonggiroh, A. (2019). Isolation and characterization of bacteria from *mangrove* sediment at coastal area in Pangkep South Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series*, 1341(2).
- Armitage, D. (2002). Socio-institutional dynamics and the political ecology of *mangrove* forest conservation in Central Sulawesi, Indonesia. *Global Environmental Change*, 12(3), 203–217.
- Avilala, J., & Golla, N. (2019). Antibacterial and Antiviral Properties of Silver Nanoparticles Synthesized By Marine Actinomycetes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(3), 1223.
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P. L. M., & Bowman, J. P. (2007). Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental Microbiology*, 9(1), 46–60.
- Blackburn, M. B., Sparks, M. E., & Gundersen-Rindal, D. E. (2016). The genome of the insecticidal *Chromobacterium subtsugae* PRAA4-1 and its comparison with that of *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472. *Genomics Data*, 10, 1–3.
- Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D., Rice, L. B., Scheld, M., Spellberg, B., & Bartlett, J. (2009). Bad bugs, no drugs: No ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), 1–12.
- Brooks, S. C., Adhikary, S., Rubinson, E. H., & Eichman, B. F. (2013). Recent advances in the structural mechanisms of DNA glycosylases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1834(1), 247–271.
- Cappuccino JG, S. N. (2002). *Microbiology. A laboratory manual. 6 th edition*. Pearson education inc.
- Cappucino and Welsh. (2017). *Microbiology. Pearson Education*.

- Chakraborty, P., Chakraborty, S., Ramteke, D., & Chennuri, K. (2014). Kinetic speciation and bioavailability of copper and nickel in *mangrove* sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 88(1–2), 224–230.
- Chakraborty, P., Ramteke, D., Gadi, S. D., & Bardhan, P. (2016). Linkage between speciation of Cd in *mangrove* sediment and its bioaccumulation in total soft tissue of oyster from the west coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, 106(1–2), 274–282.
- Chan, P. and. (1989). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press.
- Das, T., & Mohar, M. (2020). Development of a smartphone-based real time cost-effective VOC sensor. *Heliyon*, 6(10), e05167.
- Devi, N. N., Prabakaran, J. J., & Wahab, F. (2012). Phytochemical analysis and enzyme analysis of endophytic fungi from *Centella asiatica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1280–S1284.
- Diagnostic, A. (2005). *Product Specification Sheet*. 1(800), 110906.
- Djohan, T. S., Laksono, P., Anantasari, E., Utama, A. N. and, & Suhesthiningsih, K. (2015). Kondisi Hutan Bakau Tebangan Masyarakat dan Industri Pulp di Batu Ampar Kalimantan Barat. *J Kawistara*, 5(2), 99–112.
- Fauziah. (2016). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Antibakteri Metabolit Bakteri Yang Berasosiasi Spons Laut (*Agelas oroides*). *Farmasi Dan Farmakologi*, 26, 3.
- Gayatri, S., Saravanan, D., Radhakrishnan, M., Balagurunathan, R., and K., & K. (2010). ioprospecting Potential Of Fast Growing Endophytic Bacteria From Leaves Of *Mangrove* And Salt-Marsh Plant Species. *Indian Journal of Biotechnology*, 9, 397–402.
- Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L. L., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., Masek, J., & Duke, N. (2011). Status and distribution of *mangrove* forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 154–159.
- Gloeckner, H., Jonuleit, T., & Lemke, H.-D. (2001). Monitoring of cell viability and cell growth in a hollow-fiber bioreactor by use of the dye Alamar Blue™. *Journal of Immunological Methods*, 252(1–2), 131–138.
- Heins, A., & Harder, J. (2022). Particle-associated bacteria in seawater dominate the colony-forming microbiome on ZoBell marine agar. *FEMS Microbiology Ecology*, 99(1), 1–11.
- Huang, Y., Wang, Y., Wang, H., Liu, Z., Yu, X., Yan, J., Yu, Y., Kou, C., Xu, X.,

- Lu, J., Wang, Z., He, S., Xu, Y., He, Y., Li, T., Guo, W., Tian, H., Xu, G., Xu, X., ... Wu, Y. (2019). Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study. *The Lancet Psychiatry*, 6(3), 211–224.
- Jawets. (2013). *Medical Microbiology*. Mc. Graw Hill.
- Kartika Putra, A., Bakri, S., & Kurniawan, B. (2015). Peranan Ekosistem Hutan *Mangrove* Pada Imunitas Terhadap Malaria: Studi Di Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur. *Jurnal Sylva Lestari*, 3(2), 67.
- Kumar, R. R., & Jadeja, V. J. (2016). Isolation of Actinomycetes: A Complete Approach. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(5), 606–618.
- Liu, J., Wu, H., Feng, J., Li, Z., & Lin, G. (2014). Heavy metal contamination and ecological risk assessments in the sediments and zoobenthos of selected *mangrove* ecosystems, South China. *Catena*, 119, 136–142.
- Lundanes, E. (2013). *Chromatography*. University of Oslo.
- Martin, P. A. W., Gundersen-Rindal, D., Blackburn, M., & Buyer, J. (2007). *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(5), 993–999.
- MEA. (2005). *Ecosystems and Human Well-Being: Synthesis*. In *Island Press*.
- Milah, N., Bintari, S. H., & Mustikaningtyas, D. (2016). Pengaruh Konsentrasi Antibakteri Propolis terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara In Vitro. *Life Science*, 5(2), 95–99.
- Miyasaki, Y., Nichols, W. S., Morgan, M. A., Kwan, J. A., Van Benschoten, M. M., Kittell, P. E., & Hardy, W. D. (2010). Screening of herbal extracts against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Phytotherapy Research*, 24(8), 1202–1206.
- Nakagawa, A., Minami, H., Kim, J. S., Koyanagi, T., Katayama, T., Sato, F., & Kumagai, H. (2011). A bacterial platform for fermentative production of plant alkaloids. *Nature Communications*, 2(1).
- Nathan, V. K., Vijayan, J., & Ammini, P. (2020). Comparison of bacterial diversity from two *mangrove* ecosystems from India through metagenomic sequencing: Comparative *mangrove* bacterial diversity using metagenomics. *Regional Studies in Marine Science*, 35, 101184.
- O'Brien, E. (2000). Use and interpretation of ambulatory blood pressure monitoring: recommendations of the British Hypertension Society. *BMJ*, 320(7242), 1128–1134.

- Penesyau, A., Kjelleberg, S., & Egan, S. (2010). Development of Novel Drugs from Marine Surface Associated Microorganisms. *Marine Drugs*, 8(3), 438–459.
- Peterbauer, T., Mach, L., Mucha, J., & Richter, A. (2002). Functional expression of a cDNA encoding pea (*Pisum sativum* L.) raffinose synthase, partial purification of the enzyme from maturing seeds, and steady-state kinetic analysis of raffinose synthesis. *Planta*, 215(5), 839–846.
- Prasetyo, A., Santoso, N., & Prasetyo, L. B. (2017). Kerusakan Ekosistem *Mangrove* Di Kecamatan Ujung Pangkah Kabupaten Gresik Provinsi Jawa Timur Degradation of *Mangrove* Ecosystem in Ujung Pangkah Subdistrict Gresik District East Java Province. *Journal of Tropical Silviculture*, 8(2), 130–133.
- Pratiwi, S. U. T., Legendijk, E. L., de Weert, S., Idroes, R., Hertiani, T., & Van den Hondel, C. (2015). Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Massoia aromatica* Becc. Essential oils on planktonic growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 8(2), 1–13.
- Prescott, J. F., Hanna, W. J. B., Reid-Smith, R., & Drost, K. (2002). Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 43(2), 107–116.
- Raal, A., Meos, A., Hinrikus, T., Heinämäki, J., Romāne, E., Gudienė, V., Jakštas, V., Koshovyi, O., Kovaleva, A., Fursenco, C., Chiru, T., & Nguyen, H. T. (2020). Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia. *Pharmazie*, 75(7), 299–306.
- Rajan, L., Chakraborty, K., & Chakraborty, R. D. (2021). Pharmacological properties of some *mangrove* sediment-associated bacillus isolates. *Archives of Microbiology*, 203(1), 67–76.
- Romano, N., Ashikin, M., Teh, J. C., Syukri, F., & Karami, A. (2018). Effects of pristine polyvinyl chloride fragments on whole body histology and protease activity in silver barb *Barbodes gonionotus* fry. *Environmental Pollution*, 237, 1106–1111.
- Ruga and Chavasiri. (2019). Enhancing Antibacteria Activity by Combination of Chloramphenicol with Constituents from *Dracaena cochinchinensis* (Lour) SC chen. *Anti-Infective Agents*, 17, 1.
- Rusrita Aida, G., Wardiatno, Y., Fahrudin, A., & Mukhlis Kamal, M. (2014). Produksi Serasah *Mangrove* di Pesisir Tangerang, Banten (Litterfall Production of *Mangrove* in Tangerang Coastal Area, Banten). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, Agustus, 19(2), 97.

- Sarastani, D., Soekarto, S. T., Muchtadi, T. R., Fardiaz, D., & Apriyantono, A. (2002). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Ekstrak Biji Atung(*Parinarium glaberrimum* Hassk .) 1) [Antioxidant Activities of Parinarium glaberrimum Hassk Extracts and their Fractions] Bahan dan Alat Metode. *Teknologi Dan Industri Pangan*, 13(2), 149–156.
- Sarkar, G., & Suthindhiran, K. (2022). Diversity and Biotechnological Potential of Marine Actinomycetes from India. *Indian Journal of Microbiology*, 62(4), 475–493.
- Schultz, F., Anywar, G., Tang, H., Chassagne, F., Lyles, J. T., Garbe, L. A., & Quave, C. L. (2020). Targeting ESKAPE pathogens with anti-infective medicinal plants from the Greater Mpigi region in Uganda. *Scientific Reports*, 10(1), 1–19.
- Sun, Y., Xun, K., Wang, Y., Chen, X. (2009). A Systematic Review of The Anticancer Properties of Berberine, a Natural Product from Chinese Herbs. *Anticancer Drugs*, 20, 757–769.
- Susilo, S., & Suciati., R. (2016). Studies of Morphological and Secondary Metabolites Variaty of Mosses (Bryophyta) in Cibodas, West Java. *International Journal of Advanced Research*, 4(12), 1397–1402.
- Thatoi, H., Behera, B. C., Mishra, R. R., & Dutta, S. K. (2013). Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from *mangrove* ecosystems: a review. *Annals of Microbiology*, 63(1), 1–19.
- Toyofuku, T., Inoue, Y., Kurihara, N., Kudo, T., Jibiki, M., Sugano, N., Umeda, M., & Izumi, Y. (2011). Differential detection rate of periodontopathic bacteria in atherosclerosis. *Surgery Today*, 41(10), 1395–1400.
- UNEP. (2014). The Importance of *Mangroves* to People: A Call to Action. In *United Nations Environment Programme World Conservation Monitoring Centre*.
- Wahana Lingkungan Hidup Indonesia. (2014). *96 Persen Hutan Mangrove di Lampung Hilang*.
- Widhitama, S., Purnomo, P. W., & Suryanto, A. (2016). Produksi Dan Laju Dekomposisi Serasah *Mangrove* Berdasarkan Tingkat Kerapatannya Di Delta Sungai Wulan, Demak, Jawa Tengah. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 5(4), 311–319.
- Widyastuti, W., Setiawan, F., Al Afandy, C., Irawan, A., Laila, A., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Arai, M., Hendri, J., & Setiawan, A. (2022). Antifungal Agent Chitooligosaccharides Derived from Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste by *Pseudonocardia antitumoralis* 18D36-

A1. *Fermentation*, 8(8).

Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175.

Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*, 10(3).

Zainuddin, T. dan Gunawan, I. (2014). Bakau dibabat Kiamat Mendekat. *Tabloid Boemi Poetra.*, 1-15.

Zheng, L., Hong, F., Lu, S., & Liu, C. (2005). Effect of Nano-TiO₂ on Strength of Naturally Aged Seeds and Growth of Spinach. *Biological Trace Element Research*, 104(1), 083–092.