

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF BAKTERI *Citromicrobium*
sp. SIMBION MANGROVE *Avicennia alba* (J.H. MAIDEN, 1904)**

(Skripsi)

Oleh

**DEWI RATNA SARI
1814221022**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ACTIVE COMPOUNDS IN BACTERIAL *Citromicrobium* sp. AS A SIMBION OF MANGROVE *Avicennia alba* (J.H. MAIDEN, 1904)

By

DEWI RATNA SARI

Infections are caused by pathogenic microorganisms such as bacteria or fungi, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*, which still pose a global public health problem. Research shows the potential of extracts or compounds from endosymbiotic microbes of mangrove plants as an alternative to synthetic antibiotics, which can lead to the production of new metabolites. The research was conducted from July to October 2022 at the Oceanography Laboratory, Department of Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Agriculture, and Agricultural Biotechnology Laboratory, University of Lampung, with the aim of testing the antibacterial activity of the *Citromicrobium* sp. bacterial extract, identifying the active compounds contained in the bacterial extract of *Citromicrobium* sp. and analyzing the toxic properties of the bacterial extract of *Citromicrobium* sp., the mangrove symbiont of *Avicennia alba*. *Citromicrobium* sp. was cultured in NB medium for one week and then centrifuged. The bacteria were macerated using methanol as a solvent. The extracts were identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and toxicity tests were conducted. The results of the extract toxicity test showed an LC₅₀ value of 202.77 µg/mL. The analysis of the compounds in the methanol extract of the bacteria *Citromicrobium* sp. identified nine types of compounds. Four of these types had potential antibacterial properties, namely *hexadecanoic acid, methyl ester (palmitic acid, methyl ester)*, uniphat A60, *hexadecanoic acid (CAS) (palmitic acid, palmitinic acid)*, prifrac 2960, *1,2-benzenedicarboxylic acid, mono*, and *di-n-octyl phthalate 1,2-benzenedicarboxylic acid, dioctyl ester*.

Keywords : *Citromicrobium* sp., *S. aureus*, *S. typhi*, antibacterial

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF BAKTERI *Citromicrobium* sp. SIMBION MANGROVE *Avicennia alba* (J.H. MAIDEN, 1904)

Oleh

DEWI RATNA SARI

Infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri atau jamur *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global. Penelitian menunjukkan potensi ekstrak atau senyawa dari mikroba endosimbion tanaman mangrove sebagai alternatif antibiotik sintetik yang dapat menghasilkan metabolit baru. Penelitian dilakukan dari Juli hingga maret 2023 di Laboratorium Budidaya Perikanan dan Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung dengan tujuan uji aktivitas antibakteri ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp., mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. dan menganalisis sifat toksik ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. simbion mangrove *Avicennia alba*. Bakteri *Citromicrobium* sp. dibiakkan di media NB selama satu minggu dan disentrifugasi, bakteri dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak diidentifikasi menggunakan *gas chromatography mass spectra* (GCMS) dan uji toksisitas. Hasil uji toksisitas ekstrak menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 202,77 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Dari analisis senyawa dalam ekstrak metanol bakteri *Citromicrobium* sp., teridentifikasi adanya 9 jenis senyawa. Terdapat 4 jenis yang menunjukkan potensi sebagai antibakteri, yaitu *hexadecanoic acid, methyl ester (palmitic acid, methyl ester)*, *uniphat A60, hexadecanoic acid (CAS) (palmitic acid, palmitinic acid)*, *prifrac 2960, 1,2-benzenedicarboxylic acid, mono, dan di-n-octyl phthalate 1,2-benzenedicarboxylic acid, dioctyl ester*.

Kata kunci : *Citromicrobium* sp., *S. aureus*, *S. typhi*, antibakteri

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF BAKTERI *Citromicrobium*
sp. SIMBION MANGROVE *Avicennia alba* (J.H. MAIDEN, 1904)**

Oleh

DEWI RATNA SARI

(Skripsi)

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF
BAKTERI *Citromicrobium* sp. SIMBION MANG-
ROVE *Avicennia alba* (J.H. MAIDEN, 1904)**

Nama Mahasiswa : **Dewi Ratna Sari**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814221022

Jurusan/Program Studi : Perikanan dan Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan

Fakultas : Pertanian



MENYETUJUI

1. **Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.
NIP. 197412122000031002

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

2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 197008151999031001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.



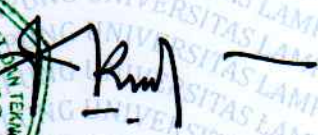
Sekretaris : Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 196110201986031002

Tanggal lulus ujian skripsi : 11 Oktober 2023

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 5 Desember 2023

Yang membuat pernyataan,



Dewi Ratna Sari
NPM. 1814221022

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada 28 Januari 1999 di Bandar Lampung sebagai anak keempat dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Alm. Zaenal dan Ibu Sujiati. Penulis memiliki dua orang kakak perempuan bernama Nani dan Dewi Elvi Yani, serta satu kakak laki-laki bernama Sunardi.

Penulis menempuh pendidikan di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 01 Gedong Air (2005-2012), Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 07 Bandar Lampung (2012-2015), dan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 09 Bandar Lampung (2015-2018). Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang sarjana (S1) di tahun 2018 pada Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Semasa menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti kegiatan Magang Pengelolaan Taman Nasional Kepulauan Seribu di Balai Taman Nasional Kepulauan Seribu Seksi Pengelolaan Taman Nasional Wilayah III Pulau Pramuka (09-26 Januari 2020). Pada tahun 2021 penulis bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik), yaitu menjadi anggota Bidang Kerohanian. Selain itu, penulis menjadi asisten dosen pada praktikum mata kuliah Widyaselam pada tahun 2020 dan Bionatural Produk Perikanan dan Kelautan pada tahun 2022 dan 2023.

Beberapa kegiatan yang pernah dilaksanakan penulis di antaranya, pada Januari-Februari 2021 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Pagar

Dewa, Kecamatan Sukau, Lampung Barat. Pada September-November 2021, penulis melaksanakan praktik umum (PU) mandiri dengan judul “Ekosistem Lamun di Pantai Ketapang Desa Batu Menyan, Kecamatan Teluk Pandan, Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Lampung”. Pada Juli 2022-Mei 2023, penulis melakukan penelitian di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung dengan judul “Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Bakteri *Citromicrobium* sp. Symbion Mangrove *Avicennia alba* (J.H. Maiden, 1904)”.

MOTO

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya".
(Q.S Al Baqarah: 286)

"Gagal hanya terjadi jika kita menyerah".
(B. J. Habibie)

"Sesungguhnya kami adalah milik Allah, dan sesungguhnya kepada-Nya kami akan kembali.".
(Q.S Al Baqarah: 156)

"Dan bersabarlah kamu, sesungguhnya janji Allah adalah benar.".
(Q.S Ar Rum: 60)

"Keberhasilan bukan milik orang pintar. Keberhasilan milik mereka yang terus berusaha".
(B. J. Habibie)

"Maka nikmat Tuhan yang manakah yang kamu dustakan?".
(Q.S Ar Rahman: 13)

SANWACANA

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, yang senantiasa memberikan limpahan berkat dan rahmat-Nya kepada penulis sehingga skripsi dengan judul “Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Bakteri *Citromicrobium* sp. Symbion Mangrove *Avicennia alba* (J.H. Maiden, 1904)” dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih, kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam perjalanan mengerjakan skripsi ini baik berupa bantuan moral. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
3. Dr. Moh Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah membantu mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian;
4. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membantu mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian;
5. Eko Efendi S.T., M.Si. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan arahan dan saran dalam menyelesaikan penelitian;
6. Ibu, Alm. Bapak, Nani, Sunardi, Dewi Elviyani, Berta Putri, S.Pi., M.Si., Dwi Lestari, S.Si., Rudiansah dan keluarga besarku yang selalu memberikan doa, kasih sayang, dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian;

7. Sahabat-sahabat perjuanganku, Ima Mulani, Nazolla Audia Laresty, Veronicka Kury, Fenti Dwi Saputri, Melati Laurensia, Melisa Teressia, R. Nata Trisna H., Aqilla Fadya, Dwi Puspitasari, Aditya Prayoga, Bagus Purnomo Aji, Panji Manggala Putra, yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikiran dalam perjalanan penulis menyelesaikan penelitian;

Bandar Lampung, 5 Desember 2023

Dewi Ratna Sari

NPM. 1814221022

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Kerangka Pikir	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bioekologi <i>Mangrove Avicennia alba</i>	6
2.2 Metabolit Sekunder <i>Mangrove</i>	7
2.3 Metabolit Sekunder Mikroba Symbion <i>Mangrove</i>	9
2.4 Bakteri <i>Citromicrobium sp</i>	10
2.5 Bakteri Patogen	12
2.5.1 <i>Salmonella typhi</i>	12
2.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.6 <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)</i>	15
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Alat dan bahan	18
3.3 Prosedur Penelitian	19
3.3.1 Preparasi Alat dan Bahan	19
3.3.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	19
3.3.1.2 Pembuatan Media	20
3.3.2 Ekstraksi	21

3.3.3 Uji aktivitas antibakteri	23
3.3.4 Toksisitas	24
3.3.5 <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	29
4.2 Hasil Uji Toksisitas.....	32
4.3 Hasil Analisis <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS).....	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. Mikrograf elektron bakteri <i>Citromicrobium</i> sp.yang diwarnai negatif.....	11
3. Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	13
4. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	14
5. Diagram alir penelitian.....	20
6. Pembuatan media NA dan NB	21
7. Ekstraksi bakteri.....	23
8. Uji aktivitas antibakteri.....	24
9. Uji toksisitas dengan metode BSLT.....	26
10. Analisis probit ekstrak bakteri <i>Citromicrobium</i> sp.....	34
11. Hasil kromatogram GC-MS ekstrak bakteri <i>Citromicrobium</i> sp.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan kimia, penggunaan, dan aktivitas farmakologi tumbuhan di Indonesia.....	8
2. Alat yang digunakan	18
3. Bahan yang digunakan	19
4. Nilai dan kategori toksisitas.....	28
5. Uji aktivitas antibakteri ekstrak bakteri <i>Citromicrobium</i> sp. terhadap <i>S. typhi</i> dan <i>S. aureus</i>	29
6. Uji aktivitas antibakteri ekstrak <i>Citromicrobium</i> sp. fraksi air dan etil asetat terhadap <i>S. typhi</i> dan <i>S. aureus</i>	31
7. Hasil uji BSLT (<i>brine shrimp lethality test</i>)	33
8. Senyawa-senyawa hasil identifikasi GC-MS ekstrak bakteri <i>Citromicrobium</i> sp. yang berpotensi sebagai antibakteri	36
9. Senyawa-senyawa hasil identifikasi GC-MS dari ekstrak bakteri <i>Citromicrobium</i> sp. yang tidak berpotensi sebagai antibakteri	39

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya mikroorganisme patogen. Penyebab infeksi dapat berupa bakteri atau jamur. Bakteri yang biasa menginfeksi manusia antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *S. aureus* adalah bakteri gram-positif yang tidak bergerak, bulat, dan umumnya terkait dengan infeksi kulit dan jaringan lunak (Bilung *et al.*, 2018). *S. typhi* adalah bakteri gram negatif penyebab demam tifoid, yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global (Barnett, 2016). Infeksi bakteri umumnya dapat diobati dengan antibiotik, namun karena antibiotik tersedia secara bebas untuk dijual, resistensi bakteri terhadap antibiotik muncul, terutama di negara berkembang (Laxminarayan *et al.*, 2013).

Upaya untuk mengaktifkan antibiotik sintetis menggunakan bahan alami, salah satu pilihan yang menarik adalah dengan menggunakan ekstrak atau senyawa yang berasal dari tanaman mangrove. Alternatif tersebut akan memanfaatkan sifat-sifat antimikroba yang terkandung dalam tanaman tersebut untuk meningkatkan efektivitas antibiotik sintetis. Memanfaatkan senyawa-senyawa alami dari tanaman mangrove, diharapkan dapat mengurangi ketergantungan pada antibiotik kimia dan memperluas opsi pengobatan.

Mangrove mengandung beberapa mikroorganisme endosimbion di dalam jaringannya yang dapat menghasilkan metabolit biologis atau sekunder. Mikroorganisme endosimbion yang diisolasi dari tanaman secara teoritis dapat menghasilkan

metabolit sekunder yang mirip atau dalam jumlah yang relatif besar dengan tanaman inang. Endosimbion yang berasal dari mangrove sangat menarik karena mereka mewakili kelompok ekologi terbesar kedua dari mikroba laut. Mikroba endosimbion juga dapat beradaptasi dengan kondisi ekstrim, menjadikannya sumber yang sangat baik untuk menemukan metabolit baru dan enzim baru (Jiang *et al.*, 2006).

Senyawa bioaktif yang dihasilkan dari metabolit sekunder pada tanaman mangrove memiliki peran penting sebagai mekanisme pertahanan terhadap tumbuhan lain, hewan, parasit, dan kondisi lingkungan ekstrim. Kehidupan mangrove yang mampu bertahan dalam lingkungan dengan tingkat salinitas tinggi, kelembaban, dan pH yang ekstrim menyebabkan mangrove menghasilkan beragam senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas biologis yang menonjol. Senyawa-senyawa tersebut telah menunjukkan potensi sebagai obat, terutama dalam konteks sebagai antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antivirus, dan antikanker (Wibowo *et al.*, 2009).

Produksi massal metabolit sekunder oleh mikroorganisme endosimbion mangrove lebih mudah karena hanya membutuhkan bioreaktor yang hemat tempat, sedangkan mangrove membutuhkan ruang yang luas untuk penanaman. Oleh karenanya, mikroorganisme endosimbion cukup menjanjikan untuk menghasilkan senyawa bioaktif sebagai bahan baku obat-obatan (Prihartiningtias dan Wahyuningsih, 2006).

Mikroba endosimbion mangrove menarik perhatian yang signifikan karena potensinya menghasilkan metabolit baru. Beberapa penelitian menunjukkan mekanisme endosimbion mengaktifkan respon stres inang terhadap berbagai cekaman abiotik, seperti suhu, garam, kekeringan, dan beberapa cekaman biotik yang dapat disebabkan oleh beberapa bakteri patogen (Darminto, *et al.*, 2009). Tumbuhan mangrove kini sedang dilindungi akibat penebangan liar untuk pembuatan arang, sehingga pemanfaatan komponen bioaktif dari tumbuhan mangrove secara langsung menjadi tantangan. Oleh karena itu, salah satu jalan yang dapat ditempuh adalah pemanfaatan mikroba endosimbion sebagai sumber obat alami untuk mengurangi kerusakan

lingkungan akibat pemanenan tanaman obat dalam jumlah besar. Kemampuan mikroba endosimbion untuk menghasilkan banyak komponen bioaktif merupakan peluang dalam penyediaan bahan baku obat. Pemuliaan kultur mikroba endosimbion dapat dilakukan dalam jumlah yang cukup banyak dan waktu panen yang singkat. Dengan demikian, penggunaan mikroba endosimbion sebagai sumber bahan baku obat lebih ekonomis (Sinaga *et al.*, 2009).

Salah satu contoh metabolit sekunder yang ditemukan dalam ekosistem mangrove adalah senyawa fenolik, seperti tanin. Senyawa tanin dapat ditemukan dalam berbagai spesies mangrove dan memiliki peran penting dalam pertahanan tanaman terhadap stres lingkungan, perlindungan terhadap herbivora, dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Mangrove juga memiliki hubungan simbiosis dengan berbagai organisme mikro, seperti bakteri dan jamur. Beberapa contoh bentuk endosimbion pada mangrove adalah bakteri *Rhizobium*. Penelitian yang dilakukan oleh Entjang (2003), menunjukkan adanya hubungan simbiosis antara akar mangrove *Rhizophora stylosa* dengan bakteri *Rhizobium*. Bakteri tersebut membantu meningkatkan penyerapan nitrogen oleh tanaman dan juga berkontribusi terhadap keseimbangan nutrisi di ekosistem mangrove.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, rumusan masalah yang akan dikaji yaitu bagaimana karakteristik senyawa antibakteri dari bakteri *Citromicrobium* sp. yang memiliki aktivitas terbaik terhadap bakteri *S. typhi* dan *S. aureus*.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian adalah:

1. uji aktivitas antibakteri ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. simbion mangrove *Avicennia alba* terhadap bakteri *S. aureus* dan *S.typhi*,

2. mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. simbion mangrove *Avicennia alba.*, dan
3. menganalisis tingkat toksisitas ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. simbion mangrove *Avicennia alba*

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang kandungan metabolit sekunder pada tanaman mangrove dan dijadikan sebagai sumber bahan obat baru.

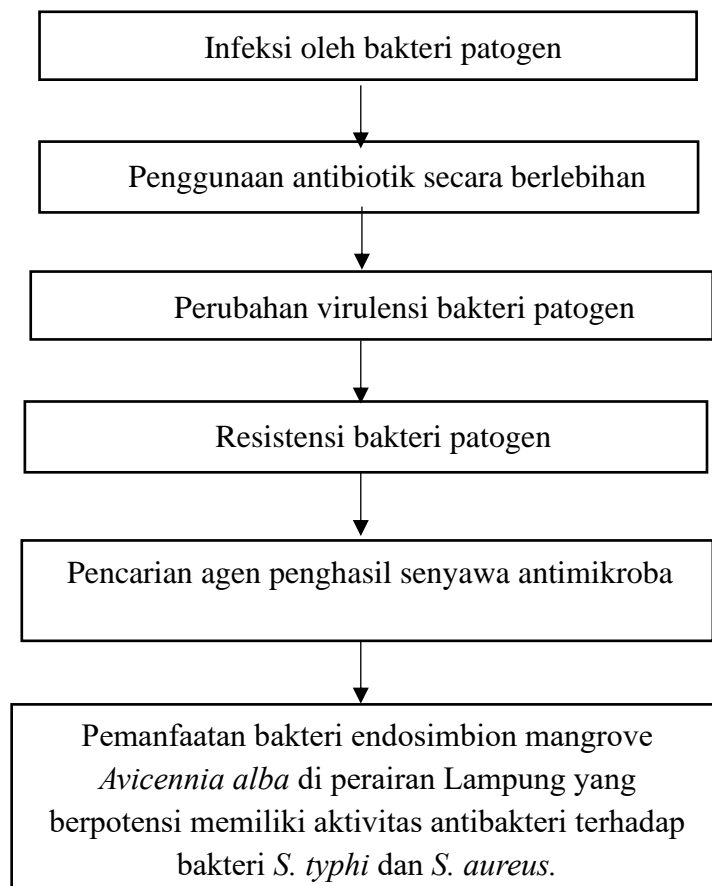
1.5 Kerangka Pikir

Penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menimbulkan dampak negatif, seperti terjadinya perubahan virulensi dari bakteri patogen dan kekebalan mikroorganisme terhadap beberapa antibiotik. Hal tersebut mengakibatkan pengobatan menjadi tidak efektif dan peningkatan morbiditas maupun mortalitas pasien. Resistensi juga muncul karena penggunaan yang berlebihan dari antibiotik berspektrum luas. Oleh karena itu, diperlukan pencarian obat-obatan baru dan lebih efektif. Salah satunya menggunakan tanaman yang mengandung bahan kimia aktif untuk mengendalikan aktivitas bakteri.

Beberapa pendekatan telah dilakukan untuk menemukan bahan obat baru, salah satunya ialah dengan memanfaatkan bahan alam. Selain khasiatnya yang telah turun temurun digunakan oleh masyarakat, obat dari bahan alam lebih murah dan mudah didapat, namun diperlukan penelitian yang lebih lanjut karena banyaknya tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya. Salah satu tanaman yang dapat digunakan ialah tanaman mangrove, karena mempunyai banyak sekali manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia di daratan, mulai dari manfaat ekologi sampai farmasi. Masyarakat pesisir memanfaatkan mangrove dalam pengobatan sebagai obat alami, salah satunya adalah tanaman mangrove jenis *Avicennia* sp.

Mangrove jenis *A. alba* juga banyak mengandung metabolit sekunder seperti, saponin, flavonoid, dan triterpenoid.

Aktivitas farmakologis bukan hanya berasal dari tumbuhan, melainkan dapat juga berasal dari bakteri endosimbion yang hidup di dalam jaringan tumbuhan (Prihanto, 2012). Beberapa studi tentang bakteri endosimbion menunjukkan potensi yang menjanjikan untuk menghasilkan senyawa bioaktif dan penyediaan bahan baku obat (Kumala dan Fitri, 2008). Hal tersebut dilakukan penelitian dengan memanfaatkan bakteri endosimbion dari mangrove dapat diteliti potensinya sebagai antibakteri.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi Mangrove *Avicennia alba*

Mangrove merupakan salah satu hutan tropis yang memiliki tingkat pertumbuhan cepat dan paling sedikit dieksploitasi. Hal tersebut didukung oleh fakta bahwa hanya 0,4% mangrove di seluruh dunia yang telah diuji komposisi kimianya (Darminto *et al.*, 2009). Mangrove di Indonesia merupakan hutan mangrove terluas di dunia, baik dari segi luas ($\pm 42.550 \text{ km}^2$) maupun jumlah jenis mangrove (± 45 jenis) (Bengen, 2001).

Mangrove adalah spesies hutan dengan ekosistem toleran garam yang terletak di antara lingkungan darat dan laut di daerah tropis dan subtropik (Feller *et al.*, 2010). Lingkungan ekosistem mangrove yang unik dan dinamis didasarkan pada sifat geo-kimia, seperti kelembaban, salinitas, dan konsentrasi nutrisi, yang secara teratur diubah oleh pasang surut. Karakteristik hutan mangrove bergantung pada produktivitas biologisnya yang tinggi. Mangrove merupakan ekosistem laut kedua paling produktif setelah terumbu karang di lautan. Ekosistem mangrove berkaitan erat dengan siklus dan konservasi hara mikroba dan tanaman (Arfi *et al.*, 2012).

Mangrove diketahui memiliki metabolit sekunder dengan bioaktivitas yang tinggi sebagai obat-obatan. Karena hal tersebut, diperkirakan bahwa mikroorganisme endosimbion dalam ekosistem mangrove menghasilkan lebih banyak metabolit sekunder dengan bioaktivitas serupa atau lebih besar daripada yang dihasilkan oleh tanaman inangnya.

Endosimbion mangrove mendapat banyak perhatian karena potensinya untuk menghasilkan metabolit baru sebagai sumber bahan baku obat-obatan. Mereka juga hidup dalam kondisi khusus seperti pH tinggi, kelembaban, dan salinitas tinggi, menjadikannya sumber yang baik untuk area penelitian, terutama untuk menemukan metabolit dan enzim baru. Sumber daya yang kaya untuk menemukan metabolit aktif dari struktur. Di antara jamur yang berasal dari tumbuhan, jamur yang berasal dari pohon yang tumbuh di kawasan mangrove telah menarik perhatian ahli kimia obat karena keunikan ekosistemnya (Debbab *et al.*, 2013).

2.2 Metabolit Sekunder Mangrove

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroorganisme, atau hewan melalui proses biosintesis dan digunakan untuk mempertahankan kehidupan, tetapi tidak mengancam jiwa (jika tidak ada), seperti gula, asam amino, dan asam lemak. Metabolit sekunder berfungsi sebagai pertahanan diri terhadap musuh. Metabolit sekunder biasanya tidak digunakan untuk memenuhi metabolit primer (pertumbuhan dan perkembangan), tetapi untuk mempertahankan keberadaannya dalam interaksinya dengan lingkungan. Beberapa kelompok metabolit sekunder yang dihasilkan dari metabolit sekunder tumbuhan antara lain alkaloid, terpenoid, dan flavonoid (Darminto *et al.*, 2009).

Tanaman mangrove merupakan organisme yang sangat menarik untuk penelitian karena adaptasi uniknya dalam menghadapi tekanan lingkungan yang ekstrim di daerah pesisir. Mereka hidup dan berkembang di lingkungan dengan salinitas tinggi, suhu yang ekstrim, serta paparan sinar UV yang intens. Pada kondisi ini, garam yang tinggi dan sinar UV dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel-sel tanaman. Namun, mangrove telah mengembangkan mekanisme adaptasi yang efektif untuk melindungi diri mereka dari tekanan lingkungan tersebut. Salah satu aspek adaptasi utama yang relevan dengan potensi penelitian adalah produksi zat sekunder atau senyawa metabolit sekunder dalam jaringan tanaman mangrove (Amaliah, 2012).

Tabel 1. Kandungan kimia, penggunaan, dan aktivitas farmakologi tumbuhan mangrove di Indonesia

No	Mangrove	Senyawa bioaktif	Kegunaan untuk pengobatan
1	<i>Avicennia alba</i>	Naphthoquinone, avicequinon, friedlein, phytosterols, 1-triacontanol, avicenol-A, avicenol, phytoalexin.	Bisul, penyakit kulit, kontrasepsi, gigitan ular, analgesik, antipiretik, anti inflamasi, antiulkus, hepatoprotektif, anti-diare, estrogenik, antifertilitas, paralisis, kudis, rematik, afrodisiak, asma, gangguan seksual dan anti bakteri.
2	<i>Avicennia lanata</i>	Ursolat, lupeol, betulin, sitosterol, sitosterol 3-O- β -D-glukopiranosida, dan tektokantiulcer. resin, hydroxyavicenol, glycosemiquinone, avicenol, glycoquinone, taraxerone.	Antikanker, menurunkan kolesterol, anti inflamasi, dan antiulcer.
3	<i>Avicennia marina</i>	Luteolin 7-O-methyl ether, chrysoeriol 7-o-glucoside, apachol, avicenna, avicenna, steno carpo quinone, lyoniresinol, taraxerone, stigmasterol-3-O- β -d-galactopyranoside, musagenoside.	Maag, pengobatan rematik, cacar, penyakit kulit, sakit tenggorokan, antihiperglukemik, antioksidan, aborsi dan luka bakar.

Sumber : Pambudi dan Haryoto (2022)

Metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia pada tumbuhan, sehingga beberapa tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Tanpa adanya senyawa bioaktif pada tumbuhan, pada umumnya tumbuhan tersebut tidak dapat digunakan sebagai obat (Darminto *et al.*, 2009).

Menurut Amaliah (2012), fungsi metabolit sekunder adalah dalam pertahanan tubuh terhadap hama dan patogen, atraktan pencemar, dan hormon pengatur tumbuh. Bagi manusia, fitokimia digunakan sebagai bahan dalam obat-obatan, wewangian, untuk makanan dan minuman, dan senyawa dalam industri kosmetik.

2.3 Metabolit Sekunder Mikroba Simbion Mangrove

Setiap tumbuhan tingkat tinggi mengandung banyak endosimbion yang mampu menghasilkan senyawa biologis atau metabolit sekunder yang diyakini sebagai hasil ko-evolusi atau transfer gen (rekombinasi genetik) dari tanaman inang ke endosimbion (Darminto 2009). Ada kemungkinan terdapat lebih dari 300.000 spesies tanaman yang tersebar di seluruh dunia, dan setiap tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endosimbion dari bakteri dan jamur (Strobel dan Bryn, 2003). Endosimbion yang diisolasi dari bagian tanaman diproduksi, tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama atau lebih besar dari tanaman aslinya.

Bakteri endosimbion adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Shore dan Sathisha, 2010). Beberapa jenis bakteri endosimbion diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik, antimalaria, dan antifungi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Kemampuan bakteri endosimbion menghasilkan senyawa aktif tersebut merupakan potensi yang dapat dikembangkan mengingat umumnya senyawa aktif diperoleh dengan mengekstraksi tanaman, khususnya tanaman obat.

Mikroba endosimbion memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Hal tersebut merupakan peluang besar bagi mikroba tersebut untuk memproduksi metabolit. Berbagai jenis mikroba endosimbion berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dan dibiakkan dalam media kultivasi yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta dielusidasi struktur molekulnya (Radji, 2005).

Bakteri endosimbion yang telah masuk ke dalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman. Mikroorganisme tersebut dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel, akar, batang, daun, dan buah (Simarmata *et al.*, 2007).

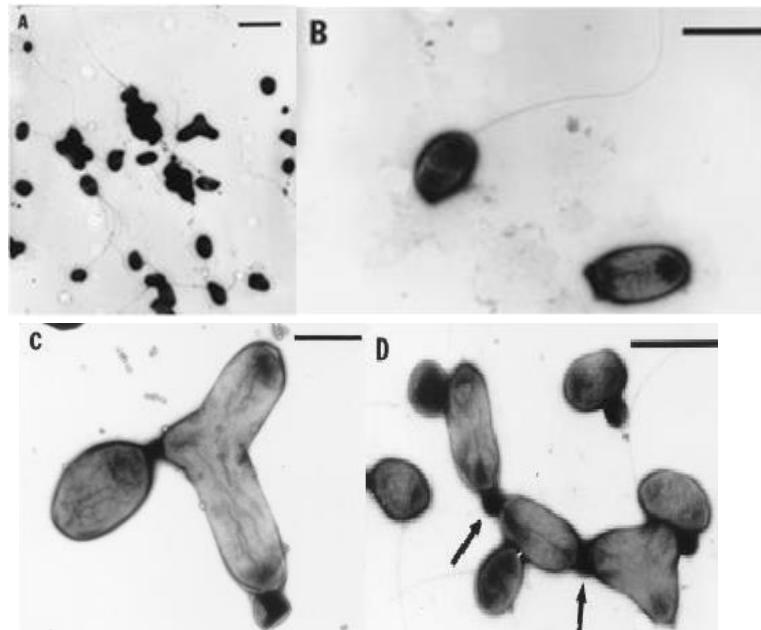
2.4 Bakteri *Citromicrobium* sp.

Citromicrobium sp. adalah spesies bakteri dalam genus *Citromicrobium*. *Citromicrobium* sp. adalah bakteri fotosintetik non sulfur yang termasuk dalam kelompok Alpha-proteobacteria. Memiliki bentuk ciri morfologi koloni melingkar dan pinggiran halus serta berwarna kuning. Bakteri *Citromicrobium* sp. memiliki bentuk batang spiral atau fusiform dengan ukuran sekitar 0,3-0,4 μm lebar dan 1,0- 2,0 μm panjang (Yurkov, *et al.*, 1999).

Klasifikasi *Citromicrobium* sp. (Yurkov *et al.*, 1999)

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Alphaproteobacteria
 Ordo : Sphingomonadales
 Famili : Sphingomonadaceae
 Genus : *Citromicrobium*
 Spesies : *Citromicrobium* sp.

Bakteri *Citromicrobium* sp. adalah organisme fotosintetik dan mengandalkan energi cahaya untuk proses fotosintesis. Bakteri *Citromicrobium* sp. menggunakan bakteri klorofil a dan b sebagai pigmen fotosintetik. *Citromicrobium* sp. juga mampu melakukan fiksasi nitrogen, yang berarti mereka dapat mengambil nitrogen dari atmosfer dan mengubahnya menjadi senyawa yang dapat digunakan oleh organisme lain. Sebagai bakteri fotosintetik, *Citromicrobium* sp. berperan dalam ekosistem perairan dengan menghasilkan oksigen melalui fotosintesis dan menjadi sumber nutrisi bagi organisme lain di rantai makanan. Kemampuan mereka untuk melakukan fiksasi nitrogen juga berkontribusi pada ketersediaan nutrisi dalam ekosistem air.



Gambar 2. Mikrograf elektron bakteri *Citromicrobium* sp.yang diwarnai negatif.
 Keterangan :(A) Pleomorfisme sel; (B) flagellation dari satu sel; (C) dan (D)sel morfologi yang berbeda dihubungkan oleh jaringan ikat (ditunjukkan oleh panah)
 Sumber : Yurkov *et al.* (1999).

Penelitian yang dilakukan oleh Yurkov *et al.*, (1999) menunjukkan bahwa bakteri *Citromicrobium* sp, bersifat aerobik obligat yang mengandung kompleks protein-pigmen fotosintesis, dan dikenal luas sebagai bakteri fototrofik anoksigenik aerobik. *Citromicrobium* sp dapat tumbuh optimal pada suhu 20 hingga 42°C.

Hasil penelitian Yurkov (1999) menunjukkan fakta bahwa bakteri jenis *Citromicrobium* sp. bukan hanya hidup dan ditemukan dari habitat perairan, tetapi juga bisa ditemukan bersimbiosis dengan mangrove dan hidup pada jaringan tanaman. Keberadaan bakteri *Citromicrobium* sp. diduga sebagai alat pertahanan diri secara simbiosis yang sifatnya mutual terhadap patogen penyebab penyakit pada tanaman mangrove. Kondisi tersebut sangat menguntungkan, terlebih lagi pada mangrove yang berada pada kondisi lingkungan yang buruk.

2.5 Bakteri Patogen

Patogen adalah organisme yang dapat menyebabkan penyakit. Berbagai jenis patogen dan tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkannya sangat beragam. Patogen membawa penyakit ke inangnya. Nama lain untuk patogen adalah agen infeksi karena mereka menyebabkan infeksi. Seperti halnya organisme apa pun, patogen memprioritaskan kelangsungan hidup dan reproduksi. Bakteri adalah patogen mikroskopis yang berkembang biak dengan cepat setelah memasuki tubuh. Mereka dapat melepaskan racun yang merusak jaringan dan menyebabkan penyakit (Posangi dan Bara, 2014).

2.5.1 *Salmonella typhi*

S. typhi adalah bakteri gram negatif penyebab demam tifoid yang tidak memiliki spora, memiliki flagela, berkembang biak dengan pembagian, dan berukuran 1-3,5 x 0,5-0,8 μm^2 , seperti disajikan pada Gambar 3. *S. typhi* tumbuh pada kondisi aerob dan per-meabel aerobik pada suhu 15-41°C, suhu optimum 37,5°C, dan pH media 6-8. *S. typhi* mati pada suhu 56°C dalam keadaan kering, bertahan dalam air selama 4 minggu, subur pada media yang mengandung garam empedu, dan tahan terhadap hijau te-rang (*flourescent*), senyawa natrium tetrionat, dan natrium deoksikolat (Riedel *et al.*, 2019). Bakteri *S. typhi* disajikan pada Gambar 3.

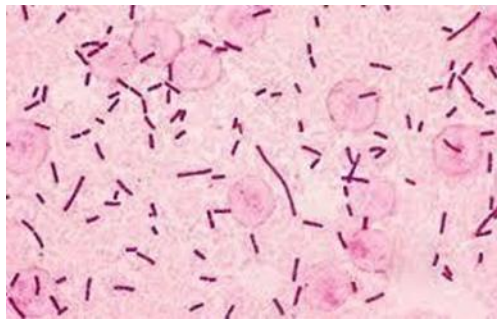
Bakteri *S. typhi* memiliki tiga struktur antigen: antigen Vi (kapsul), H (flagelata), dan O (sel somatik). Antigen O (somatik) tahan terhadap pemanasan hingga 100 °C, asam dan alkohol. Antigen H (Flagel) rusak bila dipanaskan pada suhu di atas 60 °C, asam dan alkohol. Antigen Vi (kapsul) merupakan polimer polisakarida asam yang terurai ketika asam dan fenol ditambahkan selama 1 jam dan dipanaskan hingga 60 °C untuk keluar dari bakteri (Riedel *et al.* 2019).

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi demam tifoid (Rossiana *et al.*, 2016). Gejala klinis demam tifoid berbeda dengan penyakit ringan seperti demam ringan, sakit kepala, dan malaise. Komplikasi fatal seperti kelelahan, kehilangan nafsu makan, batuk, sembelit, ruam berbintik atau roset, perforasi usus, pendarahan gastrointestinal, ensefalitis, neuritis kranial. Kasus demam

tifoid dapat dipastikan dengan demam (suhu ketiak mencapai 40°C) selama minimal 3 hari dalam kultur darah demam tifoid dikonfirmasi di laboratorium (Habte *et al.*, 2019).

Klasifikasi *Salmonella typhi* menurut Riedel *et al.*, 2019.

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Ordo : Gamma proteobacteria
 Class : Enterobacteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : *Salmonella*
 Spesies : *Salmonella typhi*



Gambar 3. Bakteri *Salmonella typhi*
 Sumber : Hardanti *et al.* (2018)

2.5.2 *Staphylococcus aureus*

Nama *S. aureus* berasal dari bahasa Yunani *staphylococci*, yang berarti seikat anggur, dan *staphylococci*, yang berarti bulat. Nama *Aureus* berasal dari bahasa latin dan berarti emas karena koloninya terlihat keemasan (Freeman, 2005). *S. aureus* merupakan bakteri gram positif dengan sel bulat menyerupai buah anggur seperti yang disajikan pada Gambar 4. *S. aureus* memiliki ukuran sel berdiameter 1 µm, bersifat patogen, tidak bergerak, dan tidak membentuk spora (Brooks *et al.*, 2007).

Staphylococci tumbuh di bawah kondisi aerobik atau mikroaerobik pada suhu optimal 37 °C. Batas suhu untuk pertumbuhan stafilokokus adalah 15°C sampai 45°C dan pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7,4 (Freeman, 2005). Pada permukaan

media, bentuk koloni tampak bulat, permukaan licin, cembung, mengkilat, dan koloni berwarna abu-abu sampai kuning keemasan. *Staphylococcus* relatif tahan terhadap kekeringan, panas (yang dapat bertahan hingga 30°C selama 30 menit), dan NaCl 9%. Namun, hal tersebut dihambat oleh beberapa bahan kimia seperti 3% *hexachlorophene* (Brooks *et al.*, 2007). *S.aureus* merupakan bakteri patogen invasif yang menghasilkan koagulase, membentuk pigmen emas, dan dapat menghemolisis sel darah merah.

Penyakit yang disebabkan oleh *S.aureus* seperti pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit. Antibiotik yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan *S.aureus* antara lain ampisilin, penisilin, tetrasiklin, amoksisilin, sefalosporin, vankomisin, dan methicillin (Jawetz *et al.*, 1996).

Klasifikasi *S. aureus* sebagai berikut :

Divisio : Protophyta
Subdivisio : Schizomycetea
Class : Schizomycetes
Ordo : Eubacteria
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2007).



Gambar 4. Bakteri *Staphylococcus aureus*
Sumber : Posangi dan Bara (2014)

2.6 *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)*

GC-MS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. Kromatografi gas dan spektrometer massa memiliki keunikan masing-masing dimana keduanya memiliki kelebihan dan kekurangan, dengan menggabungkan kedua teknik tersebut diharapkan mampu meningkatkan dalam menganalisis sampel dengan mengambil kelebihan masing-masing teknik dan meminimalisir kekurangannya.

Sejak tahun 1960, penggunaan metode pemisahan tersebut meningkat secara signifikan. Ada dua alasan utama untuk hal tersebut. Salah satunya adalah perangkat yang dapat menguapkan hampir semua senyawa organik dapat mengionisasi uap. Dua fragmen ion molekuler yang dihasilkan dapat dihubungkan melalui struktur molekulnya.

GC-MS adalah singkatan dari *gas chromatography-mass spectrometry*. GC-MS terdiri dari dua blok bangunan utama yaitu kromatografi gas dan spektrometer massa. Kromatografi gas menggunakan kolom kapiler yang tergantung pada dimensi kolom (panjang, diameter, ketebalan film) serta sifat fase (misalnya 5% fenil polisiloksan). Perbedaan sifat kimia antara molekul molekul yang berbeda dalam suatu campuran dipisahkan dari molekul dengan melewati sampel sepanjang kolom. Molekul-molekul memerlukan jumlah waktu yang berbeda (disebut waktu retensi) untuk keluar dari kromatografi gas, dan memungkinkan spektrometer massa untuk menangkap, ionisasi, mempercepat, membelokkan, dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah. Spektrometer massa melakukan hal tersebut dengan memecah masing-masing molekul menjadi terionisasi mendeteksi fragmen menggunakan massa untuk mengisi rasio (Soebagio, 2002).

1. *Gas Chromatography (GC)*

a. *Injection port*

Dalam pemisahan dengan GLC cuplikan harus dalam bentuk fase uap. Tetapi kebanyakan senyawa organik berbentuk cairan dan padatan. Karena hal tersebut, senyawa yang berbentuk cairan dan padatan pertama-tama harus diuapkan dan membutuhkan pemanasan sebelum masuk dalam kolom. Panas tersebut terdapat pada tempat injeksi. Namun demikian suhu tempat injeksi tidak boleh terlalu tinggi, sebab kemungkinan akan terjadi perubahan karena panas atau penguraian dari senyawa yang akan dianalisis dan tidak boleh menginjeksikan cuplikan terlalu banyak, karena GC sangat sensitif. Biasanya jumlah cuplikan yang diinjeksikan pada saat dianalisis antara 0,5 -50 mL gas dan 0,2 - 20 mL untuk cairan.

b. *Oven*

Oven digunakan untuk memanaskan kolom pada temperatur tertentu sehingga mempermudah proses pemisahan komponen sampel. Biasanya oven memiliki jangkauan suhu 30 – 320°C.

c. *Kolom*

Kolom merupakan jantung dari kromatografi gas. Ada beberapa bentuk kolom, diantaranya lurus, bengkok, misal berbentuk V atau W, dan kumparan/spiral. Kolom selalu berbentuk tabung. Berisi fasa diam, sedangkan fasa bergerak akan lewat di dalamnya sambil membawa sampel.

2. *Mass Spectrometer (MS)* sebagai detektor

a. *Sumber ion*

Setelah analit melalui kolom kapiler, kemudian akan diionisasi. Ionisasi pada spektroskopi massa yang terintegrasi dengan GC ada dua, yakni *electron impact ionization (EI)* atau *chemical ionization (CI)*, yang lebih jauh lagi terbagi menjadi negatif (NCI) dan positif (PCI). Berikutnya akan dijelaskan ionisasi EI. Ketika analit keluar dari kolom kapiler, kemudian akan diionisasi oleh elektron dari filamen tungsten yang diberi tegangan listrik. Ionisasi terjadi bukan karena tumbukan elektron dan molekul, tapi karena interaksi medan elektron dan molekul, ketika berdekatan. Hal tersebut menyebabkan satu elektron lepas, sehingga terbentuk ion molekular M^+ , yang

memiliki massa sama dengan molekul netral, tetapi bermuatan lebih positif. Adapun perbandingan massa fragmen tersebut dengan muatannya disebut *mass to charge ratio* yang disimbolkan M/Z . Ion yang terbentuk akan didorong ke *quadrupoles* atau *mass filter*. *Quadrupoles* berupa empat elektromagnet.

b. Filter

Pada *quadrupoles*, ion-ion dikelompokkan menurut M/Z dengan kombinasi frekuensi radio yang bergantian dan tegangan DC. Hanya ion dengan M/Z tertentu yang dilewatkan oleh *quadrupoles* menuju ke detektor.

c. Detektor

Detektor terdiri atas *high energy dynodes* (HED) dan *electron multiplier* (EM) *detector*. Ion positif menuju HED menyebabkan elektron terlepas. Elektron kemudian menuju kutub yang lebih positif, yakni ujung tanduk EM. Ketika elektron menyinggung sisi EM, maka akan lebih banyak lagi elektron yang terlepas, menyebabkan sebuah arus/aliran. Kemudian sinyal arus dibuat oleh detektor proporsional terhadap jumlah ion yang menuju detektor. Data dari spektrometer massa dikirim ke komputer dan diplot dalam sebuah grafik yang disebut spektrum massa.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari Juli 2022- Mei 2023 yang bertempat di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Alat yang digunakan

No	Alat	Keterangan / fungsi
1	Autoklaf	Sterilisasi alat dan bahan.
2	Bunsen	Sterilisasi dalam <i>laminar air flow</i> .
3	Cawan petri	Wadah media tumbuh mikroba.
4	<i>Erlenmeyer</i>	Alat untuk membuat media.
5	<i>Hot plate</i>	Penghomogen media.
6	Inkubator	Menginkubasi mikroba dengan suhu terkontrol.
7	Jangka sorong	Mengukur zona bening.
8	<i>Laminar air flow</i>	Melakukan kegiatan penelitian, menghindari kontaminasi.
9	Pinset	Untuk mengambil dan meletakkan kertas cakram.
10	Pipet tetes	Pengambil larutan.
11	<i>Shaker</i>	Pencegah penggumpalan bakteri patogen.
12	Tabung reaksi	Wadah media tumbuh isolat dan bakteri patogen.
13	<i>Paper disk</i>	Uji antagonis terhadap bakteri pathogen.
14	Kertas saring	Menyaring hasil meserasi.
15	Sentrifugasi	Memisahkan supernatan dan biomassa.
16	<i>Rotary evaporator</i>	Menguapkan metanol.
17	GC-MS QP2010S	Analisis senyawa.

Tabel 3. Bahan yang digunakan

No	Bahan	Keterangan / fungsi
1	Akuades	Sebagai pelarut media, untuk sterilisasi pada autoklaf.
2	Air laut steril	Sebagai pelarut media, untuk sterilisasi pada autoklaf.
3	Alkohol 70%	Desinfektan, sterilisasi alat dan diri.
4	Metanol teknis	Sebagai pelarut untuk ekstraksi.
5	Chloramphenicol 1%	Sebagai kontrol +, menghindari kontaminasi media.
6	<i>Artemia salina</i>	Sebagai bahan uji toksisitas
7	Media NB	Media tumbuh bakteri potensial dan patogen
8	Nystatin 100.000 IU	Sebagai kontrol -, mencegah kontaminasi oleh bakteri.
9	Media NA	Media tumbuh bakteri potensial dan patogen.
10	Bakteri <i>Citromicrobium</i> sp.	Isolat uji.
11	Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>S. typhi</i>	Sebagai bahan uji aktivitas antibakteri.

3.3 Prosedur Penelitian

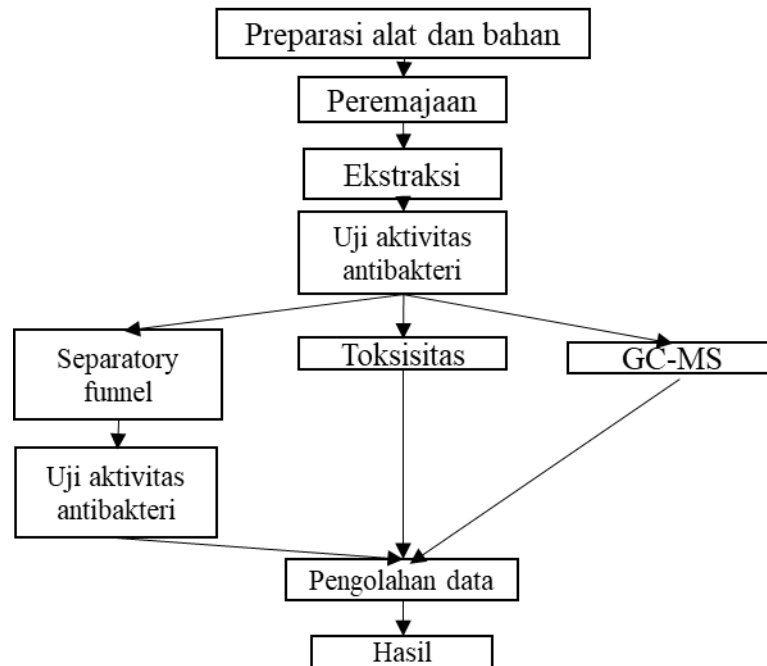
Penelitian dilakukan pada skala laboratorium. Adapun prosedur penelitian ditampilkan dalam bentuk diagram alir dan dapat dilihat pada Gambar 5.

3.3.1 Preparasi Alat dan Bahan

3.3.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Pembakar bunsen digunakan untuk mensterilkan peralatan seperti, jarum ose dan spatula dengan cara membakar ujung peralatan sampai menyala dengan pembakar bunsen. Sterilisasi alat menggunakan oven yaitu cawan petri dan pipet volume. Penggunaan alat tersebut dilakukan dengan cara menempatkan alat dalam *oven* dan dipanaskan pada suhu 160-170 °C selama 12 jam. Sterilisasi tabung reaksi bertutup dan labu erlenmeyer dalam autoklaf. Penggunaan alat tersebut terdiri dari memasukkan alat ke dalam autoklaf yang tertutup rapat dan menyalakan autoklaf pada suhu 121°C dan 15-17,5 psi atau 1 atm selama 1 jam (Kharisma dan Abdul, 2012).

Proses sterilisasi panas basah dengan autoklaf biasanya menggunakan autoklaf tekanan jenuh. Siklus berikutnya membuat proses sterilisasi autoklaf menjadi efektif dalam waktu 3 menit pada suhu 134°C atau 10 menit pada 126°C (Zahid, 2010).



Gambar 5. Diagram alir penelitian

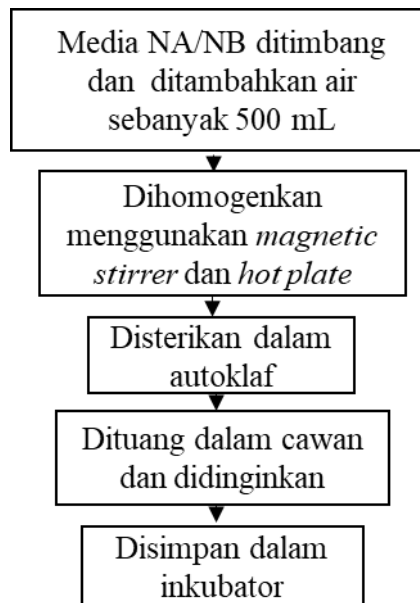
3.3.1.2 Pembuatan Media

Nutrient agar (NA) digunakan sebagai media untuk melakukan uji aktivitas dan kultur bakteri. Prosedur pembuatan media NA yaitu, media ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan air sebanyak 500 mL dalam Erlenmeyer 1.000 ml, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan *hot plate*.

Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih dan ada gelembung di dasar erlenmeyer, selanjutnya *hot plate* dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa, ditutupi dengan *aluminium foil*. Media

disterilkan di dalam autoklaf, dituang ke dalam cawan dan didinginkan. Media disimpan di dalam inkubator agar steril.

Nutrient broth (NB) digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri. Prosedur pembuatan media NB yaitu, media NB ditimbang sebanyak 4 gram, dilarutkan dengan akuades sebanyak 500 mL dalam erlenmeyer 1.000 mL kemudian dimasukkan *magnetic stirrer* dan dimasak sampai larut di atas *hot plate*. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung di dasar erlenmeyer, selanjutnya *hot plate* dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan *aluminium foil*. Prosedur pembuatan media disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pembuatan media NA dan NB

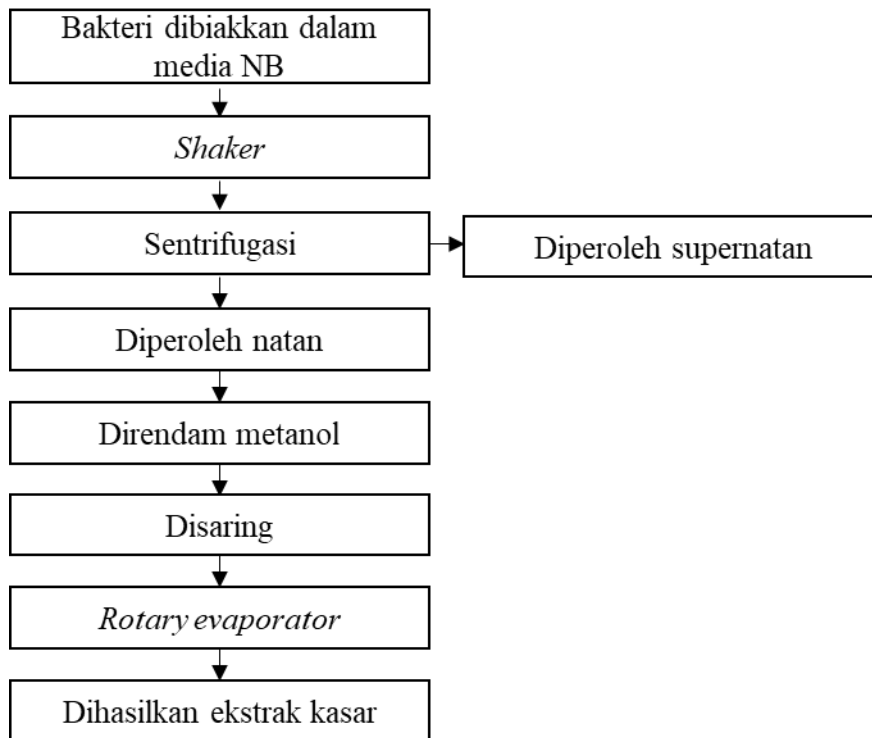
3.3.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan, yaitu suatu metode yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan bahan campuran atau senyawa tunggal yang terkandung dalam bahan alam menggunakan pelarut sehingga didapatkan *crude extract* (Voight *et al.*, 1995). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat bersifat polar, semi polar, maupun nonpolar. Menurut Amiarsih *et al.* (2006), pelarut yang

sesuai untuk digunakan memiliki beberapa syarat, di antaranya tidak toksik, mampu melarutkan senyawa, mudah menguap atau dihilangkan dari ekstrak, murah, dan tidak bereaksi dengan senyawa yang diekstrak. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dalam pelarut dengan pengocokan atau pengadukan berulang pada suhu kamar (Ditjen POM, 2000).

Ekstraksi menggunakan metanol sebagai pelarut. Metanol adalah zat polar yang tidak beracun, mudah menguap. Polaritasnya diharapkan dapat menarik lebih banyak koneksi ke bakteri, sehingga ekstrak yang diperoleh cenderung lebih tinggi. Senyawa polar yang terkandung dalam bahan alam akan mudah larut dalam pelarut polar. Pelarut polar juga dapat melarutkan atau menyerap senyawa dengan tingkat kepolaran yang lebih rendah. Air, metanol, etanol, dan asam asetat memiliki tingkat kepolaran yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai pelarut polar. Aseton, etil asetat, dan kloroform memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dari pelarut polar dan disebut sebagai pelarut semipolar. Pelarut semipolar dapat melarutkan senyawa yang bersifat semipolar dan senyawa nonpolar. Pelarut nonpolar seperti heksana dan eter baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak (Gupta *et al.*, 2012).

Bakteri endosimbion mangrove potensial dibiakkan dalam media NB sebanyak 400 mL kemudian dikocok dengan *shaker* dengan kecepatan 170 rpm pada suhu 37°C selama 72 jam. Hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dan natan. Natan yang dihasilkan kemudian diekstraksi dengan metanol menggunakan perbandingan (1/2:v/v) dan didiamkan selama 1 x 24 jam. Lapisan atas (metanol) dituangkan ke dalam labu erlenmeyer dan endapan ekstrak yang tersisa (lapisan bawah) digunakan untuk ekstraksi berikutnya hingga metanol dari ekstrak tidak berwarna. Fase metanol kemudian dipadatkan pada suhu 35°C menggunakan *rotary evaporator* untuk memberikan ekstrak kasar, untuk digunakan pada uji aktivitas ekstrak bakteri endosimbion mangrove terhadap bakteri patogen *S. typhi* dan *S. aureus* (Yati *et al.*, 2018). Prosedur ekstraksi disajikan pada Gambar 7.



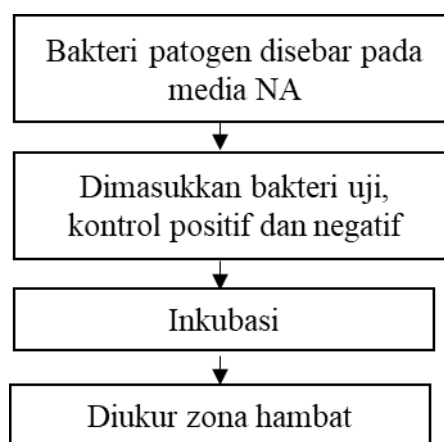
Gambar 7. Ekstraksi bakteri
 Sumber : Yati *et al.*,(2018)

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan difusi dan metode pengenceran (dilusi). Metode yang digunakan yaitu difusi, dimana metode difusi menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak (Pratiwi, 2008).

Uji aktivitas ekstrak dilakukan untuk melihat aktivitas ekstrak terhadap patogen. Uji aktivitas antibakteri sering disebut uji konfirmasi untuk melihat dari mana aktivitas daya hambat berasal. Aktivitas daya hambat dapat berasal dari sel dan juga senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Ekstrak diuji tantang dengan *S.*

typhii dan *S. aureus*. Bakteri patogen disebar ke dalam cawan petri berisi media NA menggunakan *spreader*. Kertas cakram ditetesi dengan ekstrak yang sudah tersedia dengan konsentrasi 1% atau sekitar 10.000 ppm menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ l, 2 kertas cakram lainnya diisi kontrol positif dan negatif. Kontrol positif menggunakan larutan Chloramphenicol dengan kadar 1%. Kemudian diinkubasi kembali selama 1-2 hari untuk dilihat ada atau tidaknya zona hambat. Prosedur uji aktivitas antibakteri disajikan pada Gambar 9.



Gambar 8. Uji aktivitas antibakteri

Setelah diuji aktivitas kemudian ekstrak kasar dipisahkan menggunakan dua pelarut organik yang berbeda sifat kepolarannya. Hal tersebut dimaksudkan untuk memisahkan senyawa-senyawa nonpolar dengan senyawa polar yang terdapat dalam ekstrak kasar. Pemisahan ekstrak kasar menggunakan corong pisah (*separatory funnel*). Ekstrak kasar akan terdistribusi ke dalam dua pelarut sesuai dengan kepolarannya, yang selanjutnya akan diuji aktivitas kembali untuk melihat golongan senyawa mana yang memiliki aktivitas terbesar (Munarsih, 2003).

3.3.4 Toksisitas

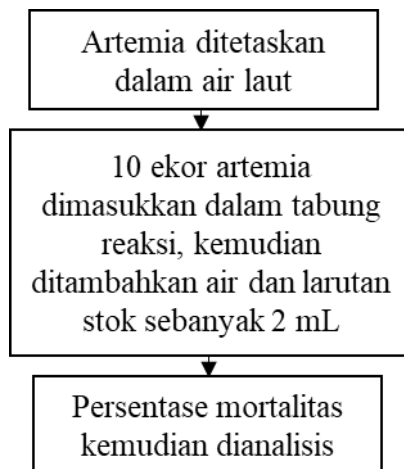
Pemanfaatan suatu senyawa metabolit sekunder harus melalui tahapan uji toksisitas. Uji toksisitas yang umum digunakan adalah metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). BSLT adalah salah satu cara untuk mengevaluasi potensi toksisitas suatu zat

terhadap organisme hidup, khususnya *Artemia salina*, yang merupakan jenis udang air asin kecil yang juga dikenal sebagai *brine shrimp*. Metode BSLT sering digunakan dalam penelitian awal untuk memperkirakan tingkat toksisitas suatu zat sebelum uji lebih lanjut pada organisme lain atau model hewan yang lebih kompleks. Uji toksisitas dengan BSLT meliputi dua tahap, yaitu uji pendahuluan dan uji utama.

1. Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan, dilakukan uji awal dengan menggunakan konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda untuk mengidentifikasi rentang konsentrasi yang mungkin memiliki efek toksik terhadap *A. salina*. Ekstrak yang diuji diencerkan dengan pelarut atau medium yang sesuai agar menghasilkan beberapa konsentrasi yang berbeda. Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan ambang batas atas dan ambang batas bawah. Konsentrasi ambang batas atas adalah konsentrasi terendah dari bahan uji yang dapat menyebabkan semua *A. salina* mati pada waktu pemaparan 24 jam. Adapun ambang batas bawah adalah konsentrasi tertinggi dari bahan uji yang dapat menyebabkan semua hewan uji hidup setelah pemaparan. *A. salina* kemudian ditempatkan dalam media tersebut dan diamati selama 48 untuk melihat respons mereka terhadap berbagai konsentrasi ekstrak. Setelah rentang konsentrasi yang berpotensi toksik telah diidentifikasi pada tahap pendahuluan, tahap selanjutnya adalah melakukan uji utama.

Penetasan *A. salina* dilakukan menggunakan toples kaca dengan cara merendam 1 g kista *A. salina* tersebut dalam air laut sebanyak 100 mL dengan konsentrasi ekstrak 1%, kemudian diberi penerangan dengan lampu listrik serta diaerasi selama 48 jam dengan salinitas 5 – 70 ppt, DO minimal 3 mg/L, pH 8 – 9 dan, suhu 28 – 35 °C. Larva yang sudah menetas diambil untuk digunakan dalam uji toksisitas terhadap ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. Sebanyak 10 larva *A. salina* dimasukkan ke dalam tabung reaksi ukuran 5 mL, lalu ditambahkan larutan ekstrak yang telah dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 1.000, 100, 10, 1, dan 0, 1 µg/mL hingga volume media uji mencapai 2 mL. Prosedur uji toksisitas disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Uji toksisitas dengan metode BSLT

2. Uji utama

Uji utama dengan rentang konsentrasi yang lebih luas digunakan untuk mendapatkan data yang lebih terperinci tentang toksisitas ekstrak tersebut terhadap *A. salina*. Uji toksisitas ditentukan dengan melihat besarnya nilai dari LC_{50} yang dapat mematikan *A. salina* sampai 50 % dan dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (*probability unit*). Pada tahap uji utama, konsentrasi yang digunakan didasarkan pada nilai batas atas dan batas bawah yang telah diidentifikasi melalui uji pendahuluan.

Perhitungan kisaran konsentrasi yang digunakan dalam uji toksisitas dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Log } \frac{N}{n} = K \log \frac{a}{n} \dots \dots \dots 1$$

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} \dots \dots \dots 2$$

Dimana :

N = Konsentrasi ambang atas

n = Konsentrasi ambang bawah

a = Konsentrasi yang dikehendaki setelah ambang batas bawah

K = Jumlah konsentrasi yang diuji

Penentuan rentang konsentrasi dilakukan dengan memastikan bahwa terdapat perbedaan logaritma yang tetap antara konsentrasi yang berurutan. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari kebingungan dalam menentukan LC₅₀-24 jam (konsentrasi yang mematikan 50% dari populasi) dari bahan uji yang sedang diuji, sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Hubert (1979) dalam Yunita, *et al.*, (2009), untuk menghitung interval konsentrasi perkiraan LC₅₀-24 jam yang digunakan dalam analisis.

Nilai LC₅₀-24 diperoleh dari anti log m, dimana m merupakan logaritma konsentrasi bahan toksik pada Y = 5, yaitu nilai probit 50% hewan uji, sehingga persamaan regresi menjadi :

$$Y = a + Bx \dots \dots \dots 3$$

Keterangan:

Y = Nilai probit

a = Konsentrasi regresi

b = *Slope*/kemiringan regresi

X = Logaritma₁₀ konsentrasi uji

$$M = \frac{5-a}{b} \dots \dots \dots 4$$

Dengan nilai a dan b diperoleh berdasarkan persamaan sebagai berikut:

$$b = \frac{\sum XY \frac{1}{n} (\sum X \sum Y)}{\sum X^2 \frac{1}{n} (\sum X)^2} \dots \dots \dots 5$$

$$a = \frac{1}{n} (\sum Y - b \sum X) \dots \dots \dots 6$$

Dimana :

n = banyaknya perlakuan

m = nilai X pada Y= 5

Kategori toksisitas pada ekstrak mangrove ditentukan dengan nilai konsentrasi LC₅₀, seperti yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai dan kategori toksisitas

No	Nilai LC ₅₀ (µg/ mL)	Kategori toksisitas
1	< 1000	Toksik
2	> 1000	Tidak toksik

Sumber : Meyer *et al.* (1982)

3.3.5 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Analisis GC-MS dilakukan menggunakan GC-MS QP2010S. Cairan diinjeksi ke dalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap dibawa oleh gas pembawa menuju kolom untuk proses pemisahan. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan melalui ruang pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragmen-fragmen ion yang dihasilkan akan ditangkap oleh detektor dan dihasilkan spektrum massa.

Jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak ditunjukkan oleh puncak (*peak*) pada kromatogram, sedangkan nama/jenis senyawa yang ada diinterpretasikan berdasar data spektrum dari tiap puncak dengan menggunakan metode pendekatan pustaka pada database GC-MS (Hendayana, 1994 *dalam* Pringgenies, 2010).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil yaitu:

1. Ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *S. typhi* pada konsentrasi 10.000 ppm termasuk dalam kategori aktif. Pada konsentrasi 2.000-9.000 ppm termasuk dalam kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi di bawah 2000 ppm tidak ditemukan adanya aktivitas antibakteri.
2. Ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. memiliki 9 senyawa dan 4 di antaranya berpotensi sebagai antibakteri.
3. Hasil uji toksisitas terhadap ekstrak bakteri *Citromicrobium* sp. menunjukkan bahwa nilai LC_{50} sebesar 202,77 $\mu\text{g/mL}$, yang mengindikasikan berpotensi toksik terhadap *Artemia salina*.

5.2 Saran

Penelitian yang dilakukan memiliki beberapa kekurangan, yaitu pada proses uji aktivitas antibakteri ekstrak yang dilakukan terlebih dahulu dari identifikasi GC-MS.

Adapun saran dari penelitian yang dilakukan yaitu, perlunya dilakukan identifikasi GC-MS terlebih dahulu untuk mengetahui apakah ekstrak memiliki aktivitas terhadap patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N.W.S., dan Kusmiati. 2012. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri senyawa aktif secara maserasi dan digesti dalam berbagai pelarut dari mikroalga *Dunaliella salina*. *Prosiding Seminar Biologi*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong. 544-551 hlm.
- Al-Rubaye, A. F., Imad, H., dan Mohanad, J. 2017. A Rulasan: kegunaan dari kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) teknik untuk analisis dari senyawa bioaktif alami dari beberapa tanam. *Jurnal Internasional Penelitian Toksikologi dan Farmakologi*. 9(1): 81-85.
- Al-Shahwi, S.G., dan David, S. 2020. The potential use of probiotics to improve animal health, efficiency, and meat quality: a review. *Journal of Bacteriology*. 10(10): 452 hlm.
- Amalia, R. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol dari akar tanaman senduduk (*melastoma affine d. don*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. 13(6): 12-35.
- Amiarsih, D., Yulianingsih dan Sabari. 2006. Pengaruh jenis dan perbandingan pelarut terhadap hasil ekstraksi minyak atsiri mawar. *J. Hort*. 16(4): 356-359.
- Arfi Y, Bueé M, Marchand C, Levasseur A dan Record E 2012. Multile markers pyrosequencing reveals highly diverse and host-specific fungal communities on the mangrove trees *Avicennia marina* and *Rhizophora stylosa*. *Microbiol*. 1(1): 433-444

- Bilung, L. M., Ahmad, S. T., Rosdi, K., Aina, A. M. R., dan Kasing, A. 2018. High occurrence of *Staphylococcus aureus* isolated from fitness equipment from selected gymnasiums. *Journal of Environmental and Public Health*. 9(2): 5-22.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., dan Stephen, A.M., 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*, Alih bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L., Penerbit Salemba Medika. Jakarta. 81 hlm.
- Asghar, S., Rehman, M.I. Choudahry. dan Rahman. 2011. Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bioassays of crude extract of *Iris Germanica*. I. *J. of Genetics and Molecular Biology*. 3(7): 95-100.
- Barnett, R. 2016. *Typhoid Fever*. Lancet. London. 388 hlm.
- Bengen, D. G.2001. Pengenalan ekosistem dan sumberdaya pesisir. *Prosiding Pelatihan Pengelolaan Wilayah Pesisir Terpadu*. Bogor. 89 hlm.
- Compean, K.L. dan Ynalvez R.A. 2014. *Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A Review, Reserach of Medical Plant*. 59 hlm.
- Darminto, Ali A., dan Dini I. 2009. Identification of potential secondary metabolites to inhibit the growth of *Aeromonas hydrophyla* bacteria from the bark of *Avicennia* spp. *Chemical Journal*. 10(2): 92-98.
- Debbab, A., Aly, A H., dan Proksch, P. 2013. *Mangrove Derived Fungal Endophytes a Chemical and Biological Perception*. Fungal Divers. Netherlands. 61 hlm.
- Dineshkumar, G., dan Rajakumar, R. 2015. GC-MS evaluation of bioactive molecules from the methanolic leaf extract of *Azadirachta indica*. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. 5(2): 64-69.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta. Departemen Kesehatan RI. 1-11 hlm.
- Entjang. 2003. *Nursing Microbiology and Parasitology*. PT Citra Aditya Bakti. Bandung. 67 hlm.

- Feller, I. C., Lovelock, C. E., Berger, U., McKee K L., Joye S B., dan Ball M C. 2010. Biocomplexity in mangrove ecosystems. *Annu. Rev. Mar.* 2: 395–417.
- Freeman-Cook. 2005. *Deadly Diseases and Epidemics Staphylococcus aureus Infection: Amerika*. Chelsea House Publishers. New York. 98 hlm.
- Gandjar., dan A. Rohman. 2007. *Analisis Kimia Farmasi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 490 hal.
- Gupta, A., Naraniwal, M., dan Kothari, V. 2012. Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International Journal of Africa Nursing Sciences*. 1(1): 8-26.
- Habte, L., Tadesse, E., Ferede, G. dan Amsalu, A. 2019. *Typhoid Fever: Clinical Presentation and Associated Factors in Febrile Patients Visiting Shashemene Referral Hospital, Southern Ethiopia*. BMC Res. Southern Ethiopia. 605 hlm.
- Hardanti, S., Wardani, AK., dan Rukmi, W. 2018. Isolasi dan karakterisasi bakteriofag spesifik *Salmonella typhi* dari kulit ayam. *J. Teknol Pertan.* 19: 107-116.
- Hendayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen, Edisi Kesatu*. IKIP Press. Semarang, 359 hlm.
- Jamili, M. A., Hidayat, M. N., dan Hifizah, M. 2014. Uji daya hambat ramuan herbal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan*. 1(2): 227-239.
- Jawetz E., JL. Melnick dan E. dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi-20*. Alih Bahasa Edi Nugroho, R.F. Maulany. EGC. Jakarta. 79 hlm.
- Jegadeeswari, P., Nishanthini, A., Muthukumaraswamy, S., dan Mohan, V. R. 2012. GC-MS analysis of bioactive components of *Aristolochia krysagathra* (aristolochiaceae). *Journal Chemical Pharmaceutical Science*. 2: 226-236.
- Jiang, Y. X., Zheng, T. L., dan Tian, Y. 2006. Research on mangrove soil microorganism: past, present and future. *Weishengwu Xuebao*. 46: 848–851

- Kharisma dan Abdul. 2012. Kelimpahan bakteri *Vibrio* sp. pada air pembesaran udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai deteksi dini serangan penyakit vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*. 4(2): 28-46.
- Khotimah, K., Darius, dan B.B. Sasmito. 2013. Uji aktivitas senyawa aktif alga coklat (*Sargassum fillipendulla*) sebagai antioksidan pada minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *THPI Student Journal*. 1(1): 10-20.
- Kokpal, V., Miles, D. H., Payne, A. M., dan Chittarwong, V. 1990. Chemical constituents and bioactive compounds from mangrove plants. *Studies in Natural Products Chemistry. Journal Chemical Pharmaceutical Science*. 7 : 175-199.
- Kumala, S., dan Fitri NA. 2008. Penapisan kapang endofit dari kayu meranti merah (*Shorea balangeran* Korth) sebagai penghasil enzim xilanase. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 6: 1-6.
- Laxminarayan, R., Adriano, D., Chand, W., Anita, K. M. Z., Heiman, F. L. W., Nithima, S., Erika, V., Gabriel, L. H., Ian, M. G., Herman, G., Christina, G., Anthony, D. S., Maryam, B., Goran, T., Will, W., Eva, O., Arturo, Q. P., Farah, N. Q., Fatima, M., Sam, K., Zulfiqar, A. B., Anthony, C., Richard, B., Gerard, D. W., Eric, D. B., dan Otto, C. 2013. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*. 13(12): 57-98.
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., dan McLaughlin, J. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45(5) : 31-34.
- Noviyanti, L. 2010. *Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom untuk Pemisahan Triglicerida dari Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 85 hlm.
- Padmini, E.A., Valarmathi, A., dan Rani, M.U. 2010. Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of spicata and camellia sinensis. *Asian J. Exp. Biol. Sci*. 1: 772-781.
- Pambudi, D, B., Haryoto. 2022. Efektivitas farmakologi senyawa aktif tumbuhan mangrove yang hidup di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 15(1): 39-57.

- Parwata, I.M.O.A., dan Dewi P.F.S., 2008, Isolasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga l.*). *Jurnal Kimia*. 2(2): 100-4.
- Posangi, J., dan Bara, R. 2014. Test of antibacterial effects of endiphytic fungus on mangrove *Sonneratia alba* leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* test bacteria. *Jurnal Kesehatan*. 3(1): 394-398.
- Rahayu, F. D., D. R. Ekastuti, R. dan Tiuria. 2013. Infestasi cacing parsitik pada insang ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Acta Veterinaria Indonesia*. 1(1): 8-14.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta. 135 hlm.
- Prihanto, A. A. 2012. Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicillium notatum* ATCC 28089 dengan *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(1): 66-70.
- Prihartiningtias, W., dan Wahyuningsih, M. S. H. 2006. Prospek mikroba endofit sebagai sumber senyawa bioaktif. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, 12(2): 117-122.
- Pringgenies, D. 2010. Karakterisasi senyawa bioaktif bakteri simbiosis moluska dengan GC-MS. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(2): 34-40.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3): 113-124.
- Riedel, S., Morse, S.A., dan Mietzner, T. 2019. *Medical Microbiologi Jawetz, Melnick, & Adelberg Ed. 28*. Mc Graw-Hill Education. New York. 397 hlm.
- Ringbom, T., Huss, U., Stenholm, A., Flock, S., Skatteboel, P., Perera, P.m dan Bohlin, L. 2001. Cox-2 inhibitory effects on naturally occurring and modified fatty acid. *J. Nat Prod.* (4): 745-749.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi (Edisi VI)*. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 256 hlm.

- Rossiana, N., Miranti, M., Rahmawati, R., Setyobudi, RH., Nuringtyas, TR., dan Adinurani, PG. 2016. Antibacterial activities of endophytic fungi from mangrove plants *Rhizophora apiculata* L. and *Bruguiera gymnorrhiza* (L.) Lamk. on *Salmonella typhi*. *AIP Conference Proceedings*. 1744(1) : 1-6.
- Scalley, RD., Ferguson, DR., Piccaro, JC., Smart, ML., dan Archie, TE. 2002. Treatment of ethylene glycol poisoning. *Am Fam Physician*. 66(5): 8-12.
- Simanjuntak, P., Bustanussalam, Otovina, DM., Rahayuningsih, M., dan Said, EG. 2004. Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman *Artemisia annua*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 15(2): 68-74.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., dan Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berkala Penelitian Hayati*. 13: 85-90.
- Sinaga, E., Noverita, dan Fitria, D. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang zingiber ottensii. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 9(4): 45-67.
- Shore, SJ., dan Sathisha, G. 2010. Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6(4): 345-352.
- Soebagio. 2002. *Kimia Analitik*. Universitas Negeri Makassar Fakultas FMIPA. Makassar. 89 hlm.
- Strobel, Gary, dan Bryn, Daisy. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural product. *Journal Microbiology and Molecular Biology*. 64: 491-502.
- Trenkamp, S., Martin W., Tietjen K. 2004. Specific and differential inhibition of very-long-chain fatty acid elongases from *Arabidopsis thaliana* by different herbicides. *Proceedings of the National Academy of Science of USA*. 101 hlm.

- Trianto, Agus., HAS, Yan Yan., Ambriyanto., dan R. Muwarni. 2004. Uji toksisitas ekstrak gorgonian *Isis hiprus* terhadap naupilus *Artemia salina*. *Journal Ilmu Kelautan*. 9(2) : 61–66.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi kelima*. Penerjemah: Soendani, Noerono. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 189 hlm.
- Wibowo, C., Kusmana, C., Suryani, A., Hartati, Y., dan Oktadiyani, P. 2009. Pemanfaatan pohon mangrove api-api (*Avicennia* spp.) sebagai bahan pangan dan obat. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian*. Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 256 hlm.
- Yati, S. J., Sumpono., dan Candra, N. 2018. Potensi aktivitas antioksidan metabolit sekunder dari bakteri endofit pada daun *Moringa oleifera* L. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2(1): 82-87.
- Yurkov, V.V., Krieger, S., Stackebrandt, E., dan Beatty, J.T. 1999. *Citromicrobium bathyomarinum*, a novel aerobic bacterium isolated from deep-sea hydrothermal vent plume waters that contains photosynthetic pigment-protein complexes. *Journal of Bacteriology*. 181(15): 4517 - 4525.
- Zahid, M., 2010, Pemilihan bahan kimia yang tepat untuk dekontaminasi di dalam laboratorium. *Journal Microbiology*. 3(5): 24-38.