

**UJI AKTIVITAS JAMUR *Scopulariopsis brevicaulis* (BAINIER,1907) DARI  
MANGROVE *Rhizophora mucronata* (LAMARCK, 1798) SEBAGAI  
ANTIBAKTERI TERHADAP *Vibrio harveyi* (GREENWOOD, 1995) DAN  
*Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1951)**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Aqilla Fadya Repliansyah**

**1814221011**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS JAMUR *Scopulariopsis brevicaulis* (BAINIER,1907) DARI MANGROVE *Rhizophora mucronata* (LAMARCK, 1798) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Vibrio harveyi* (GREENWOOD, 1995) DAN *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1951)

Oleh

**Aqilla Fadya Repliansyah**

Mangrove merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki bahan bioaktif yang menghasilkan senyawa aktif untuk menghambat bakteri, seperti bakteri penyebab vibriosis. Tumbuhan mangrove banyak juga digunakan sebagai bahan obat dimana di dalamnya terkandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat farmakologi, yang berasal dari jamur endosimbion yang hidup dalam jaringan tumbuhan. Maka dari itu dalam penelitian ini merujuk pada skrining isolat jamur endosimbion mangrove yang memiliki aktivitas terhadap bakteri vibriosis, uji aktivitas terhadap ekstrak jamur endosimbion, dan identifikasi molekuler dari jamur endosimbion mangrove. Metode yang digunakan adalah metode *dual culture*. Pada penelitian ini didapatkan 16 jamur endosimbion mangrove dari batang, akar, daun, namun hanya 1 jamur yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *V. harveyi* yaitu jamur yang berasal dari akar dengan kode RAF 3.8 yang memiliki kecocokan 100% dengan jamur *Scopulariopsis brevicaulis*.

Kata kunci: antibakteri, jamur endosimbion, mangrove, vibriosis

## ABSTRACT

**THE FUNGI ACTIVITY TESTING OF *Scopulariopsis brevicaulis* (BAINIER,1907) FROM MANGROVE *Rhizophora mucronata* (LAMARCK, 1798) AS ANTIBACTERIA TO *Vibrio harveyi* (GREENWOOD, 1995) AND *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1951)**

By

**Aqilla Fadya Repliansyah**

Mangroves are a type of plant that has bioactive ingredients that produce active compounds to inhibit bacteria, such as bacteria that cause vibriosis. Many mangrove plants are also used as medicinal ingredients which contain secondary metabolite compounds of pharmacological nature, which come from endosymbiont fungi that live in plant tissue. Therefore, this research referred to screening of mangrove endosymbiont fungal isolates that had activity against vibriosis bacteria, activity testing on endosymbiont fungal extracts, and molecular identification of mangrove endosymbiont fungi. The method used was the dual culture method. In this study, 16 mangrove endosymbiont fungi were obtained from stems, roots and leaves, but only 1 fungus had antibacterial activity against *V. harveyi* bacteria, namely a fungus originating from roots with code RAF 3.8 which has a 100% match with the fungus *Scopulariopsis brevicaulis*.

Keyword: antibacterial, endosymbiont fungi, mangrove, vibriosis

**UJI AKTIVITAS JAMUR *Scopulariopsis brevicaulis* (BAINIER,1907) DARI  
MANGROVE *Rhizophora mucronata* (LAMARCK, 1798) SEBAGAI  
ANTIBAKTERI TERHADAP *Vibrio harveyi* (GREENWOOD, 1995) DAN  
*Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1951)**

**Oleh**

**AQILLA FADYA REPLIANSYAH**

**Skripsi**

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

**Pada**

**Program Studi Ilmu Kelautan  
Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

**Judul Skripsi** : UJI AKTIVITAS JAMUR *Scopulariopsis brevicaulis* (BAINIER, 1907) DARI MANGROVE *Rhizophora mucronata* (LAMARCK, 1798) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Vibrio harveyi* (GREENWOOD, 1995) DAN *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1951)

**Nama Mahasiswa** : Aqilla Fadya Repliansyah

**Nomor Pokok Mahasiswa** : 1814221011

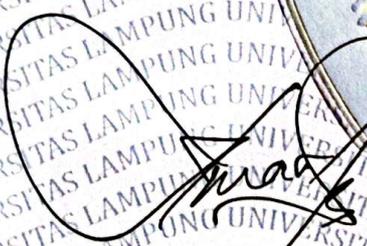
**Program Studi** : Ilmu Kelautan

**Jurusan** : Perikanan dan Kelautan

**Fakultas** : Pertanian



1. **Komisi Pembimbing**

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

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

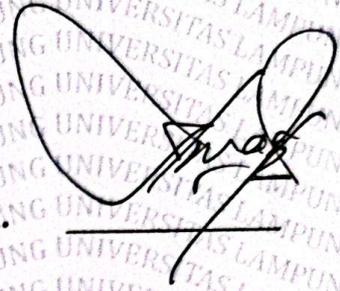
2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

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

**MENGESAHKAN**

**1. Tim penguji**

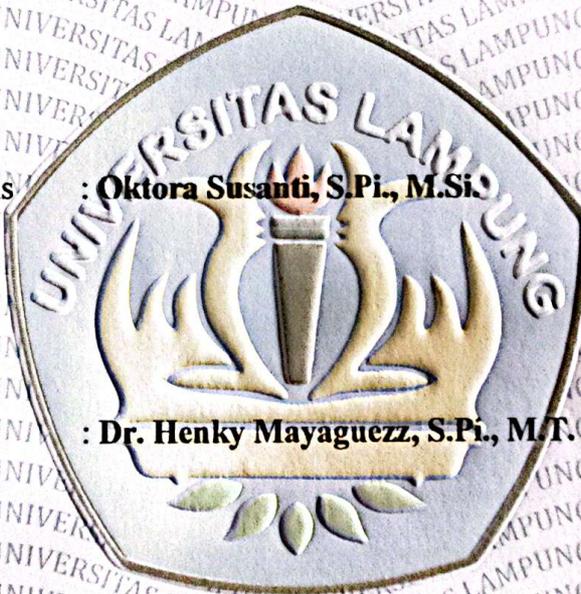
**Ketua : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.**



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



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



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Dr. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**

**NIP. 196411181989021002**

**Tanggal lulus ujian skripsi : 10 Januari 2025**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Aqilla Fadya Repliansyah

NPM : 1814221011

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Jamur *Scopulariopsis brevicaulis* (Bainier,1907) dari Mangrove *Rhizophora mucronate* (Lamarck, 1798) sebagai Antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* (Greenwood, 1995) dan *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1951).

Menyatakan bahwa skripsi yang telah saya tulis merupakan murni karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan, pengalaman, dan data yang diperoleh dari hasil penelitian yang saya lakukan. Selain itu, semua yang tertulis di dalam skripsi sudah sesuai dengan panduan penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 10 Januari 2025



Aqilla Fadya Repliansyah

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada 18 Mei 2000 di Kotabumi, Lampung Utara sebagai anak pertama perempuan dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Acep Repliansyah, S.T dan Ibu Lisa Hestina, S.H., M.M. Penulis memiliki dua orang adik laki-laki yang bernama Aqira Aqsal Repliansyah dan Farel Mawira Aruna Repliansyah. Penulis menyelesaikan pendidikan mulai Taman Kanak-Kanak Islam Terpadu (TK IT) Insan Rabbani tahun 2006, pendidikan dasar di SD IT Insan Rabbani tahun 2012, pendidikan menengah pertama di SMP IT Insan Rabbani tahun 2015, dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 03 Kotabumi tahun 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 Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Semasa menjadi mahasiswa, penulis pernah tergabung dalam Organisasi Duta Lingkungan Hidup Lampung Utara 2017 dan Muli Mekhanai Daerah Lampung Utara 2017 dan mewakili kabupaten tercinta ke ajang Muli Mekhanai Provinsi Lampung 2019. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Bionatural Produk Kelautan pada semester ganjil tahun ajaran 2023/2024. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Cahaya Negri, Kecamatan Abung Barat, Kabupaten Lampung Utara tahun 2023. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) secara *online* di Loka Pengelolaan Sumberdaya Pesisir dan Laut Serang dengan judul "Keanekaragaman dan Teknik-Teknik Rehabilitasi Ekosistem Lamun di Loka Pengelolaan Sumberdaya Pesisir dan Laut Serang, Desa Caringin, Kecamatan Labuan, Kabupaten Pandeglang Banten".

## **PERSEMBAHAN**

*Bismillahirrahmanirrahim*

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.  
Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat serta  
karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Dengan kerendahan hati dan ketulusan, kupersembahkan skripsi ini sebagai tanda  
bukti kasih sayangku untuk yang tersayang :

Ayahku Acep Repliansyah,S.T dan Bundaku Lisa Hestina,S.H., M.M. yang telah  
senantiasa melalui banyak sekali perjuangan dan rasa sakit hanya untukku. Terima  
kasih atas semua kepercayaan dan doa yang diberikan kepada Aqilla selama ini  
sehingga Aqilla bisa sampai pada tahap Sarjana Sains.

Alm. Akas, Andung, Dang Aqsal, Dongah Wira, Engah, Uncu, dan seluruh  
keluarga besar yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam semua  
proses yang Aqilla lewati, sehingga Aqilla dapat menyelesaikan pendidikan  
sarjana.

Dan almamater tercinta,  
Universitas Lampung

## **MOTO**

"Apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirmu, dan apa yang ditakdirkan untukmu tidak akan pernah melewatkanmu."

(Umar bin Khatab)

"Dan bersabarlah. Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar."

(Surat Al-Anfal ayat 46).

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya."

(Q.S Al Baqarah : 286).

"Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan."

(Q.S Al Insyirah : 5-6)

## SANWACANA

Segala puji bagi Tuhan Yang Maha Esa selalu kami panjatkan, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Jamur *Scopulariopsis brevicaulis* (Bainier,1907) dari Mangrove *Rhizophora mucronata* (Lamarck, 1798) sebagai Antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* (Greenwood, 1995) dan *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1951)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dan memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

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

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M. P. 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 Pembimbing Ketua
4. Oktora Susanti, S. Pi., M. Si. selaku Pembimbing Anggota.
5. Dr. Henky Mayaguezz, S. Pi., M. T. selaku Pembimbing Akademik dan Pembahas.
6. Ayah, Bunda dan keluarga besar Syairi Jaiz yang selalu menyemangati penulis untuk terus berjuang, selalu mendoakan yang terbaik hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Terima kasih untuk *akas, andung, engah, uncu, awo* yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, dorongan, serta telah menjadi motivasi bagi penulis untuk meraih mimpi.
7. Aqira Aqsal Repliansyah dan Farel Mawira Aruna Repliansyah yang selalu menjadi alasan penulis kuat menghadapi semua permasalahan yang ada.

8. Kepada teman-teman tersayang, khususnya R. Nata Trisna Hardini, Fathan Al Fadhil, M. Fadhil Pryambodo, Raniah Dafira Hasna, Beltaria Revina, Diva Alycia Taracehan, M. Ichsan Syaditya Rama, Ryas Ihza At-Thoriq yang selalu memberikan semangat kepada penulis sehingga penulis semangat untuk kembali menyelesaikan skripsi.
9. Kepada teman-teman lab yang siap sedia untuk membantu dalam penelitian.
10. Teman-teman Jurusan Perikanan dan Kelautan Angkatan 2018 yang selalu memberikan semangat.

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

Bandar Lampung, 10 Januari 2025  
Penulis

Aqilla Fadya Repliansyah

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	4
1.4 Kerangka Pikir.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Mangrove <i>R. mucronata</i> .....	6
2.2 Senyawa Bioaktif Pada Mangrove.....	9
2.3 Potensi Jamur Endosimbion Mangrove .....	10
2.4 Bakteri <i>V. harveyi</i> .....	11
2.5 Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> .....	13
2.6 Ekstraksi .....	14
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri .....	16
2.8 Identifikasi Molekuler.....	17
2.9 BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ).....	18
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	20
3.1 Waktu dan Tempat.....	20
3.2 Alat dan Bahan .....	20
3.3 Prosedur Penelitian .....	21
3.3.1 Pengambilan Sampel Mangrove.....	23
3.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	23
3.3.3 Isolasi Jamur Endosimbion.....	23
3.3.4. Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur Endosimbion .....	24

3.3.5. Peremajaan Bakteri Vibriosis .....	24
3.3.6. Uji Antagonis terhadap Bakteri Vibriosis .....	24
3.3.7. <i>Scale up</i> Jamur Endosimbion.....	25
3.3.8. Ekstraksi Jamur Endosimbion .....	25
3.3.9. Uji Aktivitas Antibakteri.....	25
3.3.10. BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) .....	26
3.3.11. Pengamatan secara Mikroskopis .....	27
3.3.12. Identifikasi Molekuler .....	28
3.4 Analisis Data .....	30
3.4.1 Analisis Data <i>Antibacterial Bioassay Guided Purification</i> .....	31
3.4.2 BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) .....	31
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	32
4.1 Data Isolat Jamur Endosimbion Mangrove <i>R. mucronata</i> .....	32
4.2 Uji Antagonis Antibakteri Isolat Jamur Endosimbion Mangrove <i>R. mucronata</i> .....	33
4.3 <i>Scale up</i> Jamur Endosimbion .....	35
4.4 Identifikasi Molekul Jamur Endosimbion Potensial .....	35
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endosimbion Potensial Mangrove <i>R. mucronata</i> .....	41
4.6 Uji BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) .....	42
<b>V. PENUTUP</b> .....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	45

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa pada tumbuhan mangrove.....	9
2. Senyawa dan jenis mikroba jamur endosimbion mangrove .....	10
3. Kategori toksisitas .....	19
4. Alat yang digunakan .....	20
5. Bahan yang digunakan .....	21
6. Kategori diameter zona hambat.....	25
7. Hasil uji BSLT ( <i>brine shrimp lethality test</i> ) .....	42
8. Morfologi isolat jamur endosimbion.....	55
9. Uji antagonis isolat jamur .....	56
10. Hasil uji aktivitas antibakteri.....	57
11. Rendemen ekstrak jamur .....	58
12. Perhitungan uji toksisitas .....	60

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. Mangrove <i>R. mucronata</i> .....	7
3. <i>V. harveyi</i> .....	12
4. <i>V. parahaemolyticus</i> .....	13
5. Diagram alir penelitian.....	22
6. Uji antagonis jamur RAF 3.8.....	33
7. Hasil elektroforesis ekstrak DNA isolat jamur RAF 3.8 .....	36
8. Pohon filogenetik jamur <i>S. brevicaulis</i> .....	37
9. Jamur <i>S. brevicaulis</i> (Pitt dan Hocking) (a). Identifikasi mikroskopis jamur RAF 3.8 (b). Isolat jamur RAF 3.8 <i>S. brevicaulis</i> (c). .....	38
10. Dokumentasi kegiatan.....	54
11. Aktivitas isolat ekstrak RAF 3.8 terhadap <i>V. harveyi</i> .....	58
12. Aktivitas isolat ekstrak RAF 3.8 terhadap <i>V. harveyi</i> .....	58
13. Kurva regresi linier nilai probit dengan log konsentrasi .....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi kegiatan.....	54
2. Morfologi isolat jamur endosimbion.....	55
3. Uji antagonis isolat jamur .....	56
4. Hasil uji aktivitas antibakteri.....	57
5. Aktivitas isolat dan ekstrak RAF 3.8 terhadap <i>V. harveyi</i> .....	58
6. Tabel rendemen ekstrak jamur .....	58
7. Perhitungan konsentrasi uji toksisitas .....	58
8. Perhitungan uji toksisitas .....	60
9. Urutan rantai hasil sekuensing DNA jamur RAF 3.8 .....	62

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mangrove merupakan jenis ekosistem yang menghubungkan laut dan daratan (Abubakar *et al.*, 2018). Ekosistem berikut merupakan satu-satunya ekosistem pesisir yang memiliki fungsi ekologis dan ekonomi. Mangrove dapat digunakan sebagai habitat (tempat tinggal), tempat mencari makan (*feeding ground*), tempat asuhan dan perawatan (*nursery ground*), serta tempat pemijahan (*spawning ground*) untuk berbagai spesies perairan yang merupakan salah satu fungsi ekologis rawa mangrove. Ada beberapa hal lain dari ekosistem mangrove yang dapat difungsikan sebagai sumber perekonomian penduduk, antara lain adalah pembuatan keperluan rumah tangga, industri, dan bisnis, serta sebagai bahan baku obat-obatan (Suryono, 2013). Karakteristik dari ekosistem mangrove juga dapat berdampak positif terhadap kelangsungan hidup ikan, komunitas biota bentik, dan rantai makanan di sekitarnya. Mangrove juga dikenal sebagai layanan ekologis baik di daerah tropis maupun subtropis yang menyediakan berbagai flora, fauna, dan mikroba. Mangrove merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki bahan bioaktif (Akbar *et al.*, 2018).

Bioaktif yang dimiliki mangrove *R. mucronata* di Indonesia belum dimanfaatkan secara optimal, meski kandungan metabolit sekunder seperti tanin, saponin, dan terpenoid dapat digunakan sebagai sumber antibakteri (Ramli *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif *P. aeruginosa* (Dewanto *et al.*, 2021). Potensi ekstrak daun *R. mucronata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. cereus* juga telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Sormin *et al.*, 2021). Mangrove memiliki hubungan simbiosis dengan mikroba simbiosis, salah satunya adalah jamur endosimbion mangrove, yang telah ditemukan

di sebagian besar keluarga tumbuhan, termasuk pada tumbuhan mangrove. Tumbuhan mangrove banyak juga digunakan sebagai bahan obat dimana di dalamnya terkandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat farmakologis (Soetarno, 2000). Beberapa ilmuwan mengatakan bahwa aktivitas farmakologis dapat berasal dari jamur endosimbion yang hidup di dalam jaringan tumbuhan (Prihanto, 2012).

Menurut Bara *et al.* (2015) mikroba endosimbion merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan, tanpa memberikan efek negatif terhadap inangnya. Mikroba endosimbion dapat berupa bakteri dan jamur, namun saat yang lebih banyak diteliti adalah jamur-jamur endosimbion. Jamur endosimbion merupakan jamur yang terdapat pada sistem jaringan tanaman yang tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang, kemudian dapat menghasilkan senyawa antibakteri yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati.

Jamur endosimbion menghabiskan sebagian bahkan seluruh siklus hidupnya di dalam sel jaringan hidup tanaman inangnya, dan dapat ditemui pada sistem jaringan tumbuhan seperti daun, ranting, atau akar. Jamur endosimbion diketahui dapat merangsang pertumbuhan tanaman dan meningkatkan ketahanan inang terhadap jamur patogen. Asosiasi beberapa jamur endosimbion dengan tumbuhan inang mampu melindungi tumbuhan inangnya dari beberapa patogen virulen, baik bakteri maupun jamur (Sofiyani, 2014). Beberapa studi tentang jamur endosimbion menunjukkan potensi yang menjanjikan terutama di bidang industri farmasi untuk menghasilkan senyawa bioaktif dan pemanfaatan jamur endosimbion dinilai lebih efisien dan konservatif dibandingkan dengan memanfaatkan tumbuhan mangrove secara langsung (Sinaga *et al.*, 2009). Menurut Khalil *et al.* (2020) jamur mangrove yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Beberapa penelitian membuktikan jamur endosimbion mangrove, yang berpeluang besar untuk dijadikan sebagai agen untuk menghasilkan senyawa antibiotik baru (Kumala dan Fitri, 2008; Khalil *et al.*, 2020).

Penelitian tentang aktivitas antimikroba jamur endosimbion mangrove masih dapat dikembangkan, khususnya aktivitas endosimbion mangrove terhadap bakteri penyebab vibriosis, karena penelitian sebelumnya banyak yang mengkaji. Namun, beberapa penelitian yang mengkaji tentang mangrove, menyebutkan bahwa mangrove memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa aktif untuk menghambat bakteri, seperti bakteri penyebab vibriosis. Berdasarkan penelitian (Trianto *et al.*, 2004) ekstrak dari bagian tumbuhan mangrove terbukti memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*. Hal tersebut memungkinkan bahwa jamur endosimbion mangrove memiliki aktivitas yang sama terhadap bakteri penyebab vibriosis.

Bakteri genus *Vibrio* merupakan bakteri patogen yang dapat dijumpai di perairan laut dan payau. Sarjito *et al.* (2016) menjelaskan bahwa bakteri *Vibrio* sp. merupakan bakteri penyebab vibriosis dan dapat menyebabkan kematian pada kegiatan budi daya udang dan ikan laut. Menurut Hatmanti (2003) selain menimbulkan penyakit dan kematian pada biota, bakteri *Vibrio* juga dapat mengkontaminasi biota lain, sehingga akan menimbulkan penyakit atau keracunan ketika dikonsumsi. Oleh karena beberapa alasan tersebut, diperlukan suatu penelitian untuk mengatasi permasalahan vibriosis dengan memanfaatkan jamur endosimbion dari mangrove.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Penapisan isolat jamur endosimbion mangrove yang memiliki aktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis,
2. uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endosimbion mangrove terhadap bakteri vibriosis,
3. identifikasi molekuler jamur endosimbion mangrove yang memiliki aktivitas terhadap bakteri penyebab vibriosis.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian, yaitu diperoleh informasi mengenai potensi antibakteri jamur endosimbion mangrove, terhadap bakteri vibriosis dan identifikasi isolat jamur endosimbion mangrove potensial sebagai agen antibiotik baru untuk penelitian lanjutan.

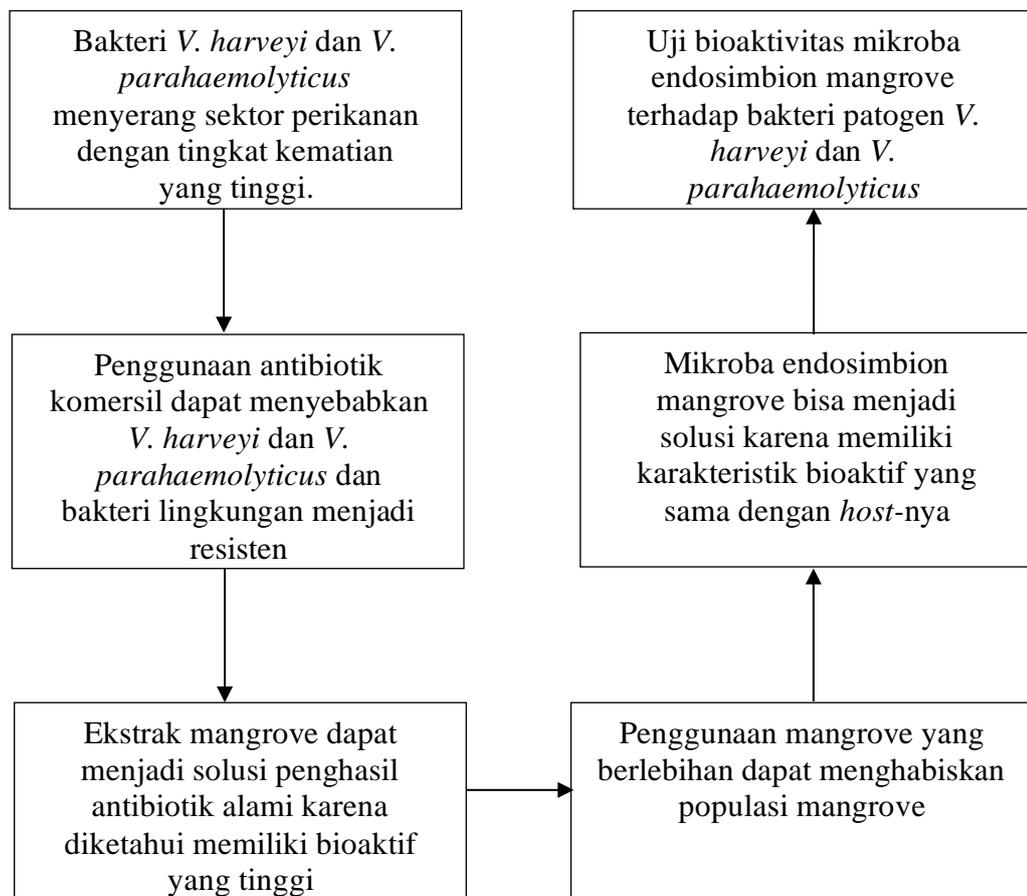
### 1.4 Kerangka Pikir

Dalam budi daya perikanan, kendala utama yang sulit dikendalikan adalah keberadaan penyakit ikan. Sudah banyak keluhan dari masyarakat dan petani, termasuk yang terlibat di keramba dan tambak. Bahkan tidak sedikit dari mereka yang menutup usahanya akibat kematian massal ikan atau udang yang siap dipanen. Kematian massal udang dan ikan disebabkan oleh bakteri vibriosis sering terjadi. Penyakit Vibrio adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri Vibrio yang dapat menyerang udang dan ikan laut. Beberapa spesies Vibrio yang dapat menyebabkan vibriosis, yaitu *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*.

WHO (2014) menyatakan bahwa resistensi multi antibiotik pada bakteri saat ini menjadi masalah utama dan resistensi obat adalah masalah serius yang mengancam sistem medis modern. Hal tersebut karena mikroorganisme yang resistan terhadap obat dapat tumbuh pada konsentrasi antibiotik yang biasanya cukup untuk membunuh mereka. Menurut Smith (2012) kegagalan pengobatan sering terjadi karena resistensi antibiotik, bahkan memiliki peluang kematian. Kualitas ikan atau udang yang siap dipanen dapat menyebabkan kematian massal yang disebabkan oleh bakteri vibrio. Namun Yano *et al.* (2014) menemukan bahwa *V. parahaemolyticus* di lingkungan tambak udang resisten terhadap ampisilin (antibiotik) dan oksitetrasiklin (antibiotik untuk infeksi antibakteri) yang berkisar di angka 72% dan 3%. Resistensi antibiotik telah dilaporkan pada beberapa spesies Vibrio termasuk *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. Parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. pufferfish*, dan *V. campbelli*.

Munculnya resistensi obat pada bakteri patogen mendorong pencarian obat yang menghasilkan senyawa antibakteri yang berpotensi untuk digunakan sebagai

bahan obat baru. Penggunaan ekstrak tumbuhan mangrove dinilai tidak konservatif. Namun dengan adanya penelitian tentang jamur endosimbion mangrove akan menjadi konservatif karena akan menggunakan jamur dari bagian tubuh mangrove saja. Jamur endosimbion mangrove dapat dimanfaatkan untuk menemukan senyawa baru yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab vibrosis. Selain lebih konservatif, jamur endosimbion tumbuh lebih cepat daripada tanaman mangrove tersebut.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Mangrove *R. mucronata*

*R. mucronata* merupakan jenis mangrove yang mudah dikenali dari propagulnya yang paling panjang dibandingkan dengan jenis lainnya. Propagulnya dapat mencapai panjang 70 cm dengan diameter 3-4 cm. Terdapat bintil-bintil pada permukaan propagul mangrove yang menjadikan permukaannya menjadi kasar. Daun *R. mucronata* juga paling lebar di antara jenis *Rhizophora* lainnya, dengan ujung daun yang meruncing. Bunganya berukuran sedikit lebih besar dan berwarna kuning yang terdiri dari 6-8 bunga per kelompok.

*R. mucronata* secara morfologi dapat diketahui dengan mudah dari bentuk daunnya yang memanjang, meruncing dan agak berkulit, serta daunnya berwarna hijau kekuningan terletak pada pangkal gagang dan sedikit melebar. Pada bagian daun mangrove berbentuk bulat memanjang dan meruncing, buahnya berbentuk lonjong atau panjang yang berwarna hijau kecoklatan, namun *R. mucronata* lebih toleran terhadap substrat yang lebih keras dan pasir. Pada umumnya *R. mucronata* tumbuh dalam kelompok yang dekat pada pematang sungai pasang surut dan di muara sungai, jarang sekali tumbuh pada daerah yang jauh dari air pasang surut (Noor *et al.*, 2006). Pertumbuhan optimal terjadi pada areal yang tergenang dengan air yang cukup dalam, serta pada tanah yang kaya akan humus. *R. mucronata* merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove yang paling penting dan paling tersebar luas dan perbungaannya terjadi sepanjang tahun.



Gambar 2. Mangrove *R. mucronata*.

Sumber : <https://presma.uny.ac.id>

Klasifikasi *R. mucronata* adalah :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Malpighiales

Family : Rhizophoraceae

Genus : *Rhizophora*

Spesies : *Rhizophora mucronata*

Hutan mangrove merupakan hutan tumbuhan tingkat tinggi yang beradaptasi dengan sangat baik di wilayah intertidal maupun pada wilayah dengan tinggi permukaan pasang surut rata-rata sampai pada wilayah dengan pasang tertinggi (Alongi, 2009). Komunitas tumbuhan mangrove tumbuh baik pada wilayah tropis dan mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang ekstrim seperti suhu tinggi, salinitas tinggi, pasang surut ekstrim, sedimen tinggi, serta kondisi substrat tumbuh yang miskin oksigen atau tanpa oksigen. Hutan mangrove merupakan suatu kawasan yang berfungsi sebagai penghubung antara lautan dan daratan, sedangkan mangrove itu sendiri memiliki beberapa fungsi ekologis bagi wilayah pesisir.

Di antaranya, sebagai benteng pencegah abrasi atau pengikisan pantai oleh gelombang air laut, sebagai tempat hidup dan sumber makanan, sebagai pencegah

intrusi air laut kedaratan. Kemudian sebagai penyaring limbah organik dan bahan kimia secara alami, serta sebagai pembentukan pulau dan menstabilkan wilayah pesisir.

Mangrove merupakan sumber daya alam tropis yang memiliki banyak manfaat sosial, ekonomi dan ekologi. Mangrove memiliki habitat yang lebih spesifik karena interaksi yang kompleks antar komponen ekosistem. Komponen-komponen yang membentuk suatu ekosistem berinteraksi membentuk satu kesatuan yang utuh dan tidak dapat berdiri sendiri-sendiri. Mangrove merupakan ekosistem yang tidak terpengaruh oleh iklim, namun faktor aluvial (tanah endapan) mendominasi pembentukan ekosistem (Indriyanto, 2006).

Mangrove tumbuh dan berkembang pada wilayah estuaria dan memiliki adaptasi yang unik. Mangrove berperan untuk menghadapi tekanan lingkungan berupa Salinitas tinggi, temperatur tinggi, dan radiasi sinar matahari yang kuat, serta melimpahnya mikroorganisme dan insekta. Tumbuhan yang dapat hidup pada daerah ekstrim, tentu memiliki senyawa yang melindunginya dari kerusakan. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya penggunaan bagian tanaman mangrove sebagai bahan racun ikan yang biasa digunakan oleh nelayan. Sifat toksisitas tersebut menunjukkan adanya kandungan senyawa yang berperan melindungi tumbuhan mangrove dari berbagai gangguan (Kokpoln *et al.*, 1990).

Ekosistem mangrove (bakau) adalah ekosistem yang berada di daerah tepi pantai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut sehingga lantainya selalu tergenang air. Ekosistem mangrove berada di antara level pasang naik tertinggi sampai level di sekitar atau di atas permukaan laut rata-rata. Pada daerah pantai yang terlindungi dan menjadi pendukung berbagai jasa ekosistem di sepanjang garis pantai di kawasan tropis (Supriharyono, 2009) dan sebagai sumber tanaman obat (Supriyanto *et al.*, 2014). Dan menjadi pendukung sebagai jasa ekosistem disepanjang garis pantai di kawasan tropis (Donato *et al.*, 2012).

Manfaat ekosistem mangrove yang berhubungan dengan fungsi fisik adalah sebagai mitigasi bencana seperti peredam gelombang dan angin badai bagi daerah di belakangnya. Ekosistem mangrove juga sebagai pelindung pantai dari abrasi,

gelombang air pasang (rob), tsunami, penahan lumpur dan perangkap sedimen yang diangkut oleh aliran air permukaan, berperan dalam pencegahan intrusi air laut ke daratan, serta dapat menjadi penetralisir pencemaran perairan pada batas tertentu (Lasibani dan Eni, 2009). Manfaat lain dari ekosistem mangrove adalah sebagai obyek daya tarik wisata alam dan atraksi ekowisata (Sudiarta, 2006).

## 2.2 Senyawa Bioaktif Pada Mangrove

Senyawa bioaktif merupakan senyawa aktif yang termasuk ke dalam metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan suatu komponen hasil metabolisme yang unik dan terbatas, yang terkadang hanya dijumpai pada kelompok tertentu. Metabolit sekunder berperan dalam interaksi sel organisme dengan lingkungan. Metabolit sekunder menjamin ketahanan hidup organisme pada ekosistem hidupnya (Verpoorte dan Alfermann, 2000). Jithesh *et al.* (2006) menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan, sehingga sebagian tumbuhan dapat digunakan sebagai bahan obat. Menurut Mulyani *et al.* (2013), tumbuhan mangrove dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Tumbuhan mangrove dikenal memiliki senyawa bioaktif seperti senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin, tanin, flavonoid, dan fenolik dengan berbagai bioaktivitas seperti antimikroba, antifungi, antivirus, dan lain-lain .

Tabel 1. Senyawa pada tumbuhan mangrove

No.	Jenis mangrove	Senyawa tumbuhan mangrove	Aktivitas	Pustaka
1.	Mangrove	Anthracenedione (41) ( $C_{15}H_{12}O_3$ )	Antikanker	Zhang <i>et al.</i> (2007).
2.	Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	Xanalteric acids I dan II, Altenusin ( $C_{15}H_{14}O_6$ )	Antimikroba	Zhang <i>et al.</i> (2007).
3.	Mangrove (akar, batang)	Belum diketahui	Antibakteri	Daratil <i>et al.</i> (2018).
4.	Mangrove	Phomopsin A,B,C dan know cytosporone B ( $C_{18}H_{26}O_5$ )	Antifungi	Huang <i>et al.</i> (2008).

### 2.3 Potensi Jamur Endosimbion Mangrove

Jamur endosimbion merupakan jamur yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa memperlihatkan timbulnya penyakit pada tumbuhan tersebut. Jamur endosimbion memiliki potensi yang besar untuk dieksploitasi dan menghasilkan senyawa-senyawa alami baru yang bermanfaat di bidang medis, pertanian, dan industri. Mikroba endosimbion akan memproduksi senyawa yang berfungsi untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme yang bersifat patogen. Jaringan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi mikroba endosimbion agar dapat tetap hidup. Hubungan antara mikroba endosimbion dan jaringan tumbuhan dikenal sebagai hubungan simbiosis mutualisme.

Mikroba endosimbion dapat berupa bakteri atau jamur. Banyak penelitian dilakukan pada jamur endosimbion, ini karena masyarakat ilmiah ingin membuktikan potensi senyawa bioaktif yang diproduksi oleh jamur endosimbion (Strobel dan Daisy, 2003). Strobel *et al.* (2004) mengungkapkan 300 ribu spesies tumbuhan tingkat tinggi di bumi dengan masing-masing individu tumbuhan menjadi inang dari jamur endosimbion. Beberapa produk bioaktif baru berhasil diisolasi dan diidentifikasi. Senyawa ini bukan hanya memiliki struktur dasar yang unik tetapi memiliki aktivitas tinggi. Tabel 2 menunjukkan senyawa dan jenis mikroba jamur endosimbion pada mangrove.

Tabel 2. Senyawa dan jenis mikroba jamur endosimbion mangrove

No.	Tumbuhan Inang	Mikroba Endosimbion	Senyawa	Aktivitas	Pustaka
1.	Mangrove	<i>Halorosellinia</i> sp. dan <i>Guignardia</i> sp.	Anthracenedione (41) (C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> )	Antikanker	Zhang <i>et al.</i> (2007).

2.	Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	<i>Alternaria</i> sp.	Xanalteric acids I and II, Altenusin (C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> )	Antimikroba	Zhang <i>et al.</i> (2007).
----	------------------------------------	-----------------------	--	-------------	-----------------------------

Tabel 2. Senyawa dan jenis mikroba jamur endosimbion mangrove (lanjutan)

3.	Mangrove (akar,batang, dan daun)	<i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. dan <i>Spergillus</i> sp.	Belum diketahui	Antibakteri terhadap bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	Darati <i>et al.</i> (2018).
4.	Mangrove	<i>Phomopsis</i> sp.	Phomopsin A,B,dan C, cytosporone B (C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub> )	Antifungi	Huang <i>et al.</i> (2008).

#### 2.4 Bakteri *V. harveyi*

Infeksi penyakit bersama umumnya ditemukan pada budidaya udang dan mengakibatkan masalah serius dibandingkan dengan infeksi tunggal (Phouc *et al.*, 2009). Infeksi bersama pada udang umumnya disebabkan oleh penyakit virus dan bakteri, *V. harveyi* merupakan bakteri penyebab penyakit vibriosis yang meresahkan pembudi daya udang sebab dapat menyebabkan kematian udang hingga 80% dalam beberapa hari (Isarangkura dan Sae Hee, 2002). Penyakit tersebut juga dapat menyebabkan kematian massal, baik pada pembenihan maupun pembesaran udang vaname di dunia karena sifatnya yang virulen (Soonthornchai *et al.*, 2010). Gejala klinis udang yang terinfeksi penyakit vibriosis menunjukkan berwarna hitam kemerahan dan beberapa organ luar tampak merah terutama pada insang dan anggota badan (Septiani *et al.*, 2012).

Berbagai usaha dalam pengobatan penyakit vibriosis telah banyak dilakukan, namun hingga saat ini kematian udang masih terjadi. Pengobatan yang umum dilakukan adalah dengan aplikasi antibiotik. Penggunaan antibiotik atau bahan kimia dengan konsentrasi yang kurang tepat dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan perairan, kemudian dapat menyebabkan resistensi, dan memba-

ayakan kesehatan konsumen karena residu dari bahan kimia yang digunakan akan terakumulasi secara berkala pada tubuh udang (Defoirdt *et al.*, 2007).

Salah satu pendekatan yang dapat diterapkan adalah penggunaan senyawa bioaktif alami dengan spektrum yang luas tanpa efek samping yang berbahaya. Beberapa spesies mangrove juga digunakan untuk menghambat vibriosis seperti *A. marina* dan *S. caseolaris* (Maryani *et al.*, 2002). Prabhu *et al.* (2012) menyebutkan daun *A. alba* mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, anti *inflammatory* dan anti *cholinergic*. Kemampuan ekstrak daun *A. alba* dalam menghambat dan membunuh *V. harveyi* disebabkan memiliki tiga senyawa metabolit sekunder, yaitu saponin, flavonoid, dan tanin yang dapat bekerja merusak membran sitoplasma (Fitri *et al.*, 2018). Namun, penelitian mengenai konsentrasi ekstrak daun *A. alba* yang tepat dalam menghambat serangan bakteri *V. harveyi* pada udang vaname perlu diteliti lebih lanjut.

Menurut Johnson dan Shunk (1936), klasifikasi *V. harveyi* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bakteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio harveyi</i>



Gambar 3. *V. harveyi*.  
Sumber : Faulkner (2000)

## 2.5 Bakteri *V. parahaemolyticus*

*Vibrio* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang melengkung (seperti koma), hidup anaerob fakultatif di air asin, tidak membentuk spora, dan uji positif pada oksidase. Semua anggota bakteri aktif bergerak (motil) dengan flagel di ujung sel dan mempunyai selubung (Soedarto, 2015). *Vibrio* merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan pada permukaan air laut di seluruh dunia. *V. parahaemolyticus* dapat ditemukan di laut dan perairan dangkal (Jawetz *et al.*, 2012).

*V. parahaemolyticus* adalah bakteri halofilik gram negatif, yang dapat menghasilkan energi untuk digunakan pada pertumbuhan oksidasi, bersifat anaerob fakultatif, tidak bisa membentuk spora, memiliki flagelum, dan bersifat zoonosis. Habitatnya berada pada perairan estuari atau pantai, namun tidak dapat hidup di laut dalam (Urquhart *et al.*, 2016). *V. parahaemolyticus* adalah jenis bakteri yang memiliki daya tahan terhadap salinitas cukup tinggi. Oleh sebab itu, bakteri patogen dapat mencemari pangan hasil laut (Liston, 1989).

Berikut klasifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* menurut Kanagawa (1985) :

Kingdom	: Bakteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>



Gambar 4. *V. parahaemolyticus*

Sumber : <https://sciencephoto.com>

## 2.6 Ekstraksi

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

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

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

Metanol merupakan senyawa kimia dengan rumus  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Metanol merupakan turunan alkohol dengan berat molekul yang rendah dan tidak berwarna. Menurut Thompson (1985), metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman. Penelitian yang dilakukan Suryanto dan Wehantouw (2009)

menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder, di antaranya yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam daun *Artocarpus altilis* F dibandingkan dengan etanol. Penelitian Padmasari *et al.* (2013) menunjukkan bahwa metanol dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan glikosida dalam rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut,

### 1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara tersebut sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah *inert* yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Beberapa senyawa mungkin sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

### 2. Ultrasound - Assisted Solvent Extraction

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Dengan demikian dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

### 3. Soxhlet

Metode soxhlet dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam kelongsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan

suhu penangas diatur di bawah suhu *reflux*. Keuntungan dari metode soxhlet adalah proses ekstraksi yang stabil, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

#### 4. *Reflux* dan Destilasi Uap

Pada metode *reflux*, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode tersebut adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

### 2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*). Oleh karena itu, untuk menunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> cfu/ml (Hermawan *et al.*, 2007).

Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Uji aktivitas ekstrak dilakukan untuk melihat aktivitas ekstrak terhadap patogen. Oleh karena itu, uji ini 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. Uji aktivitas dilakukan dengan metode Kirby Bauer atau difusi menggunakan kertas cakram. Ekstrak diuji tantang dengan *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*. Bakteri patogen di-*spread* ke dalam cawan berisi media Zobell menggunakan *spreader*.

Kertas cakram ditetesi dengan ekstrak yang sudah tersedia dengan konsentrasi 1% atau sekitar 10.000 ppm menggunakan mikropipet sebanyak 20  $\mu$ L, 2 kertas cakram lainnya diisi kontrol positif dan negatif. Kontrol positif menggunakan larutan Kloramfenikol dengan kadar 1%. Kemudian diinkubasi kembali selama 1-2 hari untuk dilihat ada atau tidaknya zona hambat.

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan konsentrasi yang berbeda-beda dimasukkan pada media cair. Media tersebut langsung diinokulasikan dengan bakteri dan diinokulasikan. Tujuan dari percobaan tersebut adalah menentukan konsentrasi terkecil suatu zat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Metode dilusi agar membutuhkan waktu lama dalam pengerjaannya sehingga jarang digunakan (Jawetz *et al.*, 2005).

Metode turbidimetri (metode tabung) pada cara turbidimetri, digunakan medium cair dalam tabung reaksi. Pengamatan dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan bakteri. Kadar antibakteri ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer. Metode turbidimetri mempunyai beberapa kelebihan antara lain alatnya cukup sederhana, mudah dioperasikan, cepat dan biaya tidak mahal, sedangkan kelemahan metode turbidimetri karena sifatnya multi unsur sehingga faktor interferensi dari unsur-unsur lain sangat berpengaruh (Padmaningrum dan Marwati, 2015).

## **2.8 Identifikasi Molekuler**

Identifikasi molekuler merupakan sebuah analisis yang dilakukan untuk mendapatkan informasi terkait genetik makhluk hidup. Dalam perkembangannya,

identifikasi molekuler digunakan untuk berbagai macam kepentingan, mulai dari medis hingga penelitian. Dalam bidang penelitian, identifikasi jenis ini digunakan untuk mendapatkan informasi jenis suatu makhluk hidup. Metode ini biasa dilakukan dalam mengidentifikasi mikroorganisme. Dalam pelaksanaannya, metode tersebut dilakukan melalui berbagai tahapan. Mulai dari ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, pembuatan gel agarosa, elektroforesis, dan sekuensing.

Penelitian berbasis genetika molekuler semakin berkembang setiap tahunnya. Sejak penemuan DNA (*deoxyribonucleic acid*) heliks ganda dari Watson Crik, para peneliti semakin tergugah untuk membuka cakrawala baru di bidang genetika molekuler, di antaranya dengan penemuan-penemuan enzim restriksi, teknik manipulasi gen dan rekayasa genetika, perkembangan kultur sel terutama kultur *stem cell*, pembuatan hewan transgenik, dan *knockout* untuk lebih memperdalam fungsi dari suatu sel (Fatchiyah *et al.*, 2011).

DNA merupakan molekul penyusun kromosom yang tersusun atas basa-basa nukleotida, gula pentose/deoksiribosa dan gugus fosfat. Empat macam basa nitrogen yaitu adenin, guanin, timin, dan sitosin. Basa adenin dan guanin digolongkan sebagai basa purin, sedangkan basa timin, dan sitosin sebagai basa pirimidin. Gula pentosa dan gugus fosfat bersifat identik. Urutan nukleotida DNA terdiri dari daerah yang mengkode gen yang disebut ekson, daerah bukan pengkode DNA disebut intron. Regulator gen, dan daerah urutan berulang seperti mikrosatelit, *telomere*, *variable number tandem repeat* (VNTR), *sequence tagged site* (STS), dan *single nucleotide polymorphism* (SNP) (Fatchiyah, 2011).

## 2.9 BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

*Brine shrimp lethality test* merupakan suatu *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam dan salah satu metode menguji bahan yang bersifat toksik. Keunggulan uji BSLT tidak menghabiskan banyak waktu, prosedurnya sederhana, cepat, tidak membutuhkan banyak biaya, tidak membutuhkan teknik aseptik, tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sedikit sampel uji.

*Bioassay* adalah uji yang menggunakan organisme hidup untuk mengetahui efektivitas suatu bahan hidup ataupun bahan organik dan anorganik. Metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan coba dan merupakan uji toksisitas akut karena efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat (selama 24 jam) setelah pemberian dosis uji tunggal. Dasar pengujian dengan metode BSLT pada kemampuan senyawa untuk mematikan larva udang. Caranya, yaitu dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  (*lethal concentration*) dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina*. Tingkat toksisitas suatu bahan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kategori toksisitas

Kategori	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1.000
Tidak toksik	>1.000

Sumber : Cahyadi, (2009).

Senyawa yang aktif akan menghasilkan mortalitas yang tinggi dan sesuai acuan literatur tersebut dapat dilakukan uji berikutnya. Seperti uji toksisitas subakut, subkronis, atau toksisitas jangka panjang untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat, contohnya mencari zat-zat potensial sebagai antikanker. Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktivitasnya dengan BSLT menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu uji spesifik antikanker, yaitu pada kondisi  $LC_{50}$ . Tetapi bila tidak bersifat toksik, dapat diteliti kembali khasiat lainnya dengan menggunakan hewan coba lain yang lebih besar dari larva *artemia* (Cahyadi, 2009).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2023 – Juni 2023 di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Alat yang digunakan

Nama alat	Fungsi
Autoklaf	Sterilisasi alat dan bahan.
Bunsen	Sterilisasi didalam laminar <i>airflow</i> .
Cawan petri	Wadah media tumbuh mikroba.
<i>Coolbox</i>	Alat penyimpanan sampel.
<i>Coolpack</i>	Alat pendingin pada <i>coolbox</i> .
<i>Erlenmeyer</i>	Wadah membuat media.
Gelas ukur	Pengukur pelarut saat membuat media.
<i>Hot plate</i>	Alat pemanas dan pengaduk media.
Inkubator	Tempat inkubasi mikroba dengan suhu terkontrol.
Jangka sorong	Alat pengukur zona bening.
Jarum ose	Alat inokulasi mikroba.
Jas lab, masker, sarung tangan	Alat pelindung dan menjaga tubuh tetap steril.
Kamera ponsel	Dokumentasi.
Laminar <i>airflow</i>	Tempat kegiatan penelitian, menghindari kontaminasi.
Laptop	Pengolahan data.
Lemari pendingin	Tempat simpan media kosong.
Pinset	Alat penjepit.
Pisau/ <i>cutter</i>	Alat pemotong sampel.
Timbangan digital	Alat penimbang media atau sampel.

Tabel 4. Alat yang digunakan (lanjutan)

Nama alat	Fungsi
Pipet tetes	Alat pemindah larutan.
<i>Rotary evaporator</i>	Alat evaporasi ekstrak jamur.
<i>Shacker</i>	Alat pencegah penggumpalan patogen.
<i>Spreader</i>	Penyebar mikroba kultur.

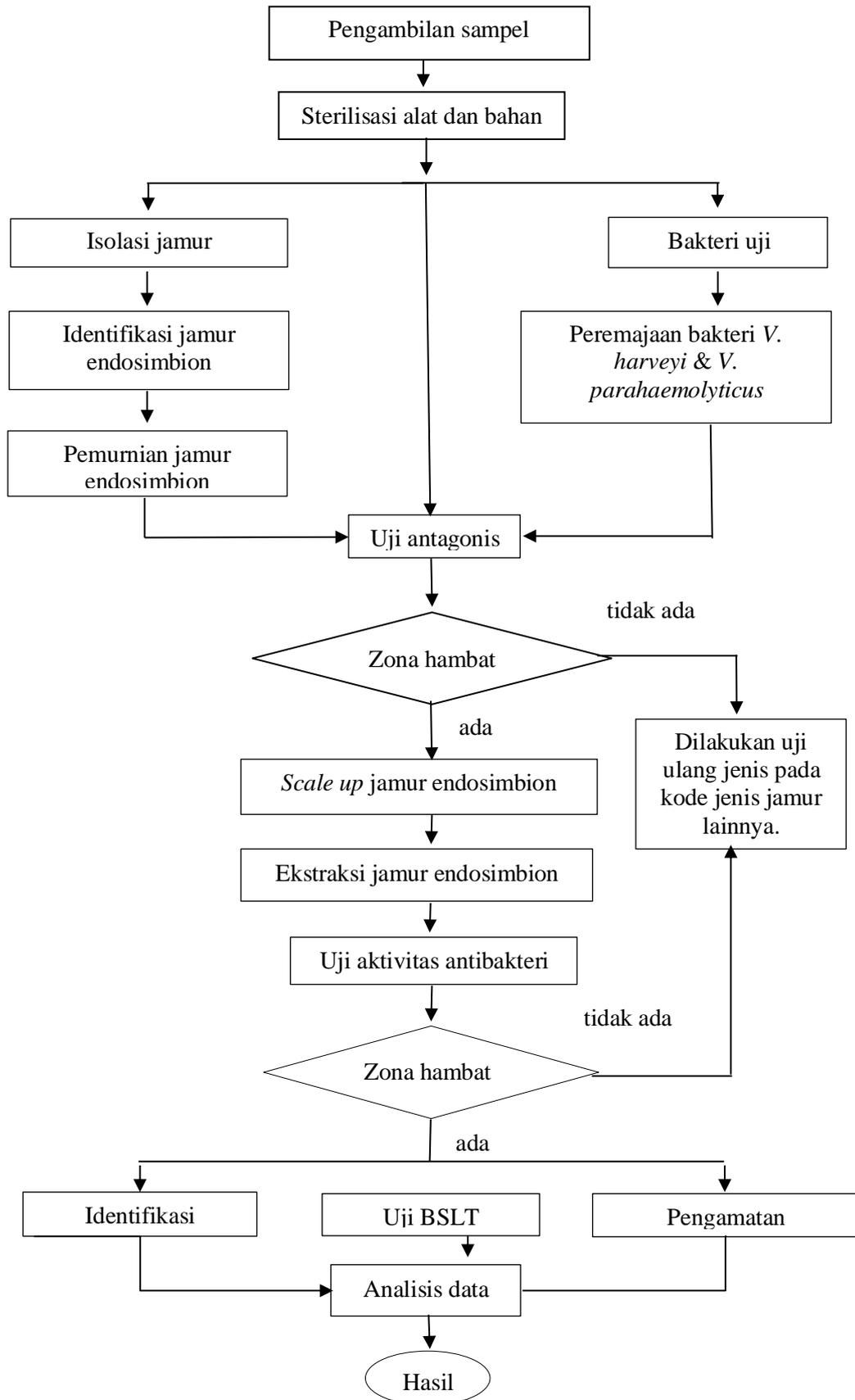
Bahan yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Bahan yang digunakan

Nama bahan	Fungsi
Akuades	Pelarut media tawar.
Air laut steril	Pelarut media laut.
Alkohol	Sterilisasi alat dan diri.
Aluminium foil	Pembungkus alat.
Kloramfenikol	Zat anti kontaminasi jamur pada media kultur jamur.
<i>Nystatin</i> 100.000 IU	Zat anti kontaminasi bakteri pada media kultur bakteri patogen.
Metanol	Bahan pelarut ekstraksi.
MEA ( <i>malt extract agar</i> )	Media tumbuh jamur (padat).
MEB ( <i>malt extract broth</i> )	Media tumbuh jamur (cair).
<i>Artemia salina</i>	Hewan uji toksisitas.
<i>Paper disk</i>	Kertas uji antagonis terhadap bakteri patogen.
Plastik tahan panas	Pembungkus alat dan bahan saat sterilisasi.
Plastik <i>wrap</i>	Pembungkus cawan petri.
Kertas tisu	Pembersih alat.
<i>Zobell</i>	Media pertumbuhan bakteri potensial dan patogen.
Bakteri <i>V. harveyi</i>	Sebagai bakteri uji patogen.
Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	Sebagai bakteri uji patogen.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dan pelaksanaan pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir penelitian

### 3.3.1 Pengambilan Sampel Mangrove

Sampel mangrove diambil dari Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur, Lampung. Penelitian dilakukan di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan karena hutan mangrove di daerah tersebut hidup dengan baik dan belum ada peneliti yang mengambil sampel di daerah Desa Margasari. Jenis mangrove yang diambil adalah mangrove *R. mucronata*. Sampel yang diambil pada bagian adalah akar, batang, dan daun. Sampel kemudian dibersihkan menggunakan air laut. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam plastik *zip* dan disimpan di dalam *coolbox*, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi.

### 3.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu. Ada dua macam sterilisasi yang digunakan, yaitu sterilisasi basah, dan sterilisasi dengan bahan kimia, yaitu alkohol 70%. Alat-alat seperti cawan petri, tabung reaksi, dan erlenmeyer disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Sterilisasi menggunakan autoklaf yang berfungsi untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya dengan suhu 121 °C (250 °F). Bahan-bahan seperti kertas saring, media *Zobell*, media MEB, dan media MEA disterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Mikha, 2013).

### 3.3.3 Isolasi Jamur Endosimbion

Sampel mangrove dikeluarkan dari dalam *coolbox* kemudian dilakukan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 30 detik sebanyak dua kali. Pada persentase tersebut sudah dapat dipastikan bahwa dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Noviansari, 2013). Tujuan dari perendaman adalah untuk membersihkan akar, batang, dan daun mangrove dari mikroba yang berasal dari bagian permukaan sampel.

Isolasi dilakukan dengan cara menyayat sampel mangrove dengan sayatan melintang menggunakan *cutter*, kemudian diambil bagian dalamnya. Hasil potongan

sampel diambil menggunakan pinset dan diletakkan di cawan yang telah berisi media MEA. Kemudian cawan dibungkus menggunakan bungkus plastik. Setelah itu sampel diinkubasi selama 3-5 hari.

#### **3.3.4. Identifikasi dan Pemurnian Isolat Jamur Endosimbion**

Pemurnian jamur endosimbion bertujuan untuk memastikan hanya ada satu jenis koloni jamur saja yang hidup di dalamnya. Jamur endosimbion yang telah diinkubasi dan tumbuh diidentifikasi berdasarkan morfologinya (bentuk, warna, dan miselium). Kemudian jamur endosimbion ditandai dan diberi kode. Jamur endosimbion yang telah ditandai, dipisahkan dari cawan petri yang masih bercampur dengan jamur lainnya ke media MEA miring. Setelah itu diinkubasi selama 3-7 hari, kemudian di simpan di Laboratorium Oseanografi.

#### **3.3.5. Peremajaan Bakteri Vibriosis**

Peremajaan bakteri dilakukan sehari sebelum uji antagonis. Bakteri yang diremajakan yaitu bakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* (Defoirdt *et al.*, 2007). Peremajaan dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari media sebelumnya menggunakan jarum ose. Kemudian bakteri dipindahkan ke media baru, yaitu media NB. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam atau hingga bakteri mencapai kepadatan  $10^6$  cfu/ml.

#### **3.3.6. Uji Antagonis terhadap Bakteri Vibriosis**

Metode yang digunakan adalah metode *dual culture* yang kemudian dimodifikasi oleh Ainy *et al.* (2015). Metode uji antagonis merupakan metode yang biasa dilakukan dalam penelitian karena mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Bakteri uji yang telah tumbuh, dituang sebanyak 100  $\mu$ L ke dalam cawan berisi media padat dan didiamkan selama 5 menit sampai mengering. Jamur yang telah tumbuh dipotong dan diambil sebagian kecil untuk kemudian diletakkan pada cawan berisi bakteri patogen. Cawan uji tersebut diinkubasi selama 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap zona hambat. Setelah uji dilakukan dan zona hambat terbentuk, zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran kemudian dicatat dan dikategorikan zona hambatnya. Susanto *et al.*, (2012) mengategorikan zona hambat seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Kategori diameter zona hambat

Diameter (mm)	Kekuatan daya hambat
$\leq 5$	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat

Sumber : Susanto *et al.* (2012)

### 3.3.7. Scale Up Jamur Endosimbion

Jamur endosimbion yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* dipilih untuk kemudian dilakukan kultivasi menggunakan media MEB sebanyak 50 mL di dalam botol kaca berukuran 500 mL. Kultivasi dilakukan selama 21 hari hingga botol sampel terisi penuh oleh isolat jamur. Setelah isolat jamur memenuhi botol sampel, isolat kemudian dipisahkan dari media cair dan ditimbang beratnya menggunakan timbangan digital.

### 3.3.8. Ekstraksi Jamur Endosimbion

Isolat jamur yang telah di-*scale up* kemudian diekstraksi. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi (perendaman) dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak dipisahkan dari pelarut menggunakan kertas saring. Perendaman dan penyaringan dilakukan secara berulang sampai ekstrak pada miselium benar-benar terlarut. Hasil ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kasar untuk selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri vibriosis.

### 3.3.9. Uji Aktivitas Antibakteri

Media NA (*nutrient agar*) digunakan untuk skrining antibakteri. Media NA dibuat dengan melarutkan 28 gram dalam 1.000 mL akuades. Tahap peremajaan bakteri menggunakan media NB (*nutrient broth*) dengan komposisi 8 gram NB/liter akuades. Bakteri vibriosis yang akan digunakan diremajakan dengan mengambil sebanyak satu jarum ose dan diletakkan pada media NB di tabung reaksi. Kemudian tabung yang berisi media NB dan isolat bakteri vibriosis dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Isolat diinkubasi selama 24 jam di atas *shaker*. Isolat bakteri

vibriosis yang telah diremajakan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Ke-padatan bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Uji antibakteri menggunakan metode difusi. Bakteri vibriosis yang telah diremajakan diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100  $\mu\text{L}$ . Lalu, diinokulasi pada media NA di cawan petri dan diratakan dengan *spreader*.

Ekstrak jamur yang telah dilarutkan pada metanol ditetaskan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke kertas cakram dan ditunggu beberapa saat hingga kering. Kontrol positif menggunakan kloromfenikol 1% yang dilarutkan dengan akuades steril dengan konsentrasi 20  $\mu\text{g}/\text{disk}$ . Kontrol negatif menggunakan kertas cakram yang ditetesi 20  $\mu\text{L}$  pelarut yang sama untuk melarutkan ekstrak, yang bertujuan untuk memastikan tidak adanya pengaruh antibiotik. Kertas cakram yang sudah ditetesi isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan pada cawan petri berisi bakteri vibriosis dan diinkubasi selama 24-48 jam (Maisarah, 2014). Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur dan dicatat.

### **3.3.10. BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Pada uji toksisitas dibuat larutan air dengan 1.000 mL akuades dan 20 gram NaCl. Sebanyak 4 gram bibit *A. salina* dimasukkan kedalam air laut buatan dan disimpan ke dalam ruangan yang gelap dan hanya diberi cahaya lampu kuning untuk menetas dan dibiarkan selama 48 jam. Setelah 48 jam larva *A. salina* sudah memiliki anggota tubuh yang lengkap sehingga dapat digunakan. Selanjutnya adalah memasukkan 10 ekor larva *A. salina* ke dalam wadah 50 ml. Konsentrasi yang digunakan adalah 10.000, 1.000, 100, 10 ppm, dan larutan kontrol. Konsentrasi dibuat dengan cara menambahkan ekstrak jamur endosimbion mangrove *R. mucronata* dan air laut buatan sesuai dengan konsentrasi yang akan dibuat.

Uji toksisitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat toksik pada suatu sampel. Pada sampel jamur endosimbion mangrove *R. mucronata* dilakukan perlakuan terhadap larva *A. salina* 10 ekor pada setiap konsentrasi dengan 3x pengulangan. Konsentrasi yang digunakan adalah 10.000, 1.000, 100, 10 ppm, dan larutan kontrol. Larutan kontrol yang digunakan adalah larutan yang digunakan sebagai media pertumbuhan larva. Metode yang digunakan pada uji toksisitas adalah metode BSLT (*brine shrimp lethality test*) yang dikenal dengan ketepatan-

nya. Berdasarkan nilai *lethal concentration* 50% ( $LC_{50}$ ). Apabila ( $LC_{50}$ ) < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa metabolit sekunder.

Apabila ( $LC_{50}$ ) < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa metabolit sekunder. Tingkat toksisitas suatu ekstrak, apabila nilai  $LC_{50} \leq 30$  ppm bersifat sangat toksik, nilai  $LC_{50} \leq 31$  ppm bersifat toksik,  $LC_{50} \leq 1.000$  ppm bersifat toksik dan nilai  $LC_{50} > 1.000$  ppm bersifat tidak toksik. Untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$ , terlebih dahulu menghitung mortalitas dengan menggunakan persamaan Fagoone dan Lauge (1981) :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Juvenile larva ati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Setelah mengetahui persentase mortalitas larva *Artemia*, kemudian dihitung nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier.

$$Y = a + bX$$

Keterangan:

Y : Nilai probit

a : Konsentrasi regresi

b : slope/kemiringan regresi

X : logaritma 10 konsentrasi uji

### 3.3.11. Pengamatan secara Mikroskopis

Identifikasi mikroskopis dilakukan terhadap isolat jamur yang memiliki aktivitas zona hambat. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan guna mengetahui karakteristik jamur berdasarkan bentuk tubuh. Identifikasi pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan melakukan pengamatan menggunakan mikroskop. Isolat pada media cawan diambil dan diletakkan di objek yang telah ditetesi KOH, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

### 3.3.12. Identifikasi Molekuler

Isolat jamur yang memiliki aktivitas terhadap bakteri vibriosis diidentifikasi secara molekuler. Urutan nukleotida diperoleh melalui proses *sequencing* DNA genom hasil PCR. Hasil dari proses *sequencing* berupa kromatogram dari nukleotida. Program BioEdit digunakan untuk *contig* atau merakit kembali serangkaian bagian DNA. Sebagian basa yang berada di ujung-ujung *sequence* fragmen DNA target memberikan sinyal yang lemah atau tumpang tindih sehingga harus dipotong. *Sequence assembly* dari dua *sequence* hasil *sequencing* dua arah yaitu, *forward* dan *revers* yang digabungkan menjadi satu *sequence* utuh (Sogandi, 2018).

Untuk mengetahui spesies fungi diperlukan analisis perbandingan dengan membandingkan dua *sequence* atau lebih. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet melalui program pelacakan *data base basic local alignment search tool* (BLAST) pada National Centre for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA. Pohon filogenetik dibuat menggunakan aplikasi MEGA11 dengan metode *neighbor joining* berdasarkan data BLAST.

#### 1. Ekstraksi DNA Jamur

Jamur yang berumur 2-3 minggu dipanen dengan cara menambahkan 10 mL air steril pada cawan yang berisi biakan jamur. Suspensi konidia kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit, kemudian ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500  $\mu$ L setelah proses sentrifus. Pelet tersebut disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu supernatan (cairan bening di bagian atas endapan) dibuang dan pelet (endapan) ditambahkan 1000  $\mu$ L larutan *buffer*. Pelet yang ditambahkan *buffer* dihomogenkan dengan *rotary mixer* hingga pelet tersuspensi merata dalam larutan, lalu dimasukkan ke dalam mortar dan ditumbuk sebentar. Pelet yang telah ditumbuk kemudian dimasukkan ke dalam kulkas selama 1-2 hari untuk diinkubasi.

Selanjutnya pelet dalam mortar diambil dan ditumbuk selama 15 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400  $\mu$ L dan di *waterbath* pada suhu 65° C selama 1 jam. Setelah itu

fenol, kloroform, isoamil alkohol masing-masing ditambahkan sebanyak 500  $\mu\text{L}$  dihomogenkan dan disentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit.

Setelah disentrifus terbagi menjadi 2 larutan, larutan atas yang bening diambil sebanyak 600  $\mu\text{L}$ , lalu dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang baru. Fenol, kloroform, dan isoamil alkohol (PCI) ditambahkan dengan perbandingan yang sama dengan volume hasil larutan sebelumnya (1:1), disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit.

Setelah sentrifus selesai, diambil larutan bagian atasnya sebanyak 400  $\mu\text{L}$  dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 mL baru, ditambahkan isopropanol dingin dengan volume yang sama, dicampur atau dikocok agar tercampur. Larutan kemudian diinkubasi pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit, disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan peletnya, kemudian supernatan dibuang. Pelet ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500  $\mu\text{L}$ , disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit kemudian supernatan dibuang dan pelet yang didapatkan dikeringanginkan selama 1-2 hari.

## 2. Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

Amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR) berfungsi untuk mendeteksi unsur DNA dan RNA yang ada di dalam jamur, berdasarkan yang telah dilakukan oleh Huang *et al.* (2009), menggunakan mesin PCR Biometra TGradient. Amplifikasi daerah ITS rDNA sampel fungi endosimbion daerah ITS1 dan ITS4 dilakukan menggunakan pasangan primer ITS1 dan ITS4 sesuai dengan peta posisi yang dirancang oleh White *et al.* (1990). Amplifikasi dilakukan dalam campuran reaksi 50  $\mu\text{L}$  yang masing-masing mengandung 25  $\mu\text{L}$ , *primer forward* ITS1 10  $\mu\text{L}$ , *primer reverse* ITS4 10  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 2  $\mu\text{L}$ , dan DNA *template* jamur 3  $\mu\text{L}$ . Siklus termal adalah sebagai berikut *hot start* 5 menit pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$ , diikuti oleh *denaturation* 1,5 menit pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$ , *annealing* 1 menit pada suhu  $48^{\circ}\text{C}$ , dan *extension* awal 3 menit pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$ , dan 8 menit pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$  untuk final.

### 3. Elektroforesis

Elektroforesis berfungsi untuk mengetahui ukuran dan bentuk suatu partikel baik DNA, RNA dan protein, berdasarkan prosedur yang dilakukan oleh Prihatini (2014). Produk hasil amplifikasi PCR di-*running* elektroforesis pada gel agarose 1% pada 100 V selama 45 menit dengan *marker* DNA *ladder* 1 kb. Gel agarose kemudian divisualisasi pada UV transilluminator dan gambar untuk melihat apakah DNA berhasil diekstraksi. Gambar kemudian diambil menggunakan kamera.

### 4. Purifikasi dan Sekuensing

Ekstrak DNA kemudian dipurifikasi mengikuti prosedur PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta kemudian dilanjutkan tahap sekuensing menggunakan primer ITS1 dan ITS4 mengikuti prosedur First BASE, Singapura. Sekuens DNA yang diperoleh dibandingkan dengan database Gen Bank di National Center for Biotechnology Information (NCBI) menggunakan program Basic Local Alignment Search Tool Algorithm (BLAST). Sekuens tersebut dicocokkan dengan sekuens yang paling dekat. Sekuens dianggap teridentifikasi tingkat spesiesnya jika lebih dari 95% sesuai dengan sekuens database. Untuk melihat kesamaan sekuens antara sampel isolat dengan database gen bank menggunakan Multiple Sequences Alignment program Clustal Omega di European Bioinformatics Institute hingga membuat pohon filogeni sederhana.

## 3.4 Analisis Data

Data dari hasil penelitian selanjutnya dikumpulkan, dianalisis secara deskriptif, dan diinterpretasikan, kemudian akan ditarik kesimpulan pada penelitian tersebut.

### Analisis Data Rendemen

Berat ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan menurut Wahyuni dan Widjanarko (2014) yaitu :

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

### 3.4.1 Analisis Data *Antibacterial Bioassay Guided Purification*

Pada *antibacterial bioassay guided purification* isolat fungi yang memiliki aktivitas terhadap antibakteri akan menghasilkan zona hambat. Pengukuran zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dihitung dengan persamaan :

$$Z = (A - B)$$

Keterangan:

Z = Diameter zona hambat (mm)

A = Diameter zona bening (mm)

B = Diameter kertas cakram (5,2 mm)

### 3.4.2 BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Pada uji BSLT (*brine shrimp lethality test*) data yang didapat diolah dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Larva mati}}{\text{Larva uji}} \times 100\%$$

untuk mengetahui persentase mortalitas yang dihasilkan, setelah nilai nilai mortalitas diketahui selanjutnya dihitung nilai probit untuk menentukan nilai toksisitas relatif dengan menggunakan nilai  $LC_{50}$ .

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan simpulan sebagai berikut :

1. Isolat jamur endosimbion mangrove *R. mucronata* ditemukan sebanyak 16 jenis yang terdiri dari 6 jamur dari bagian batang, 6 jamur dari bagian akar, dan 4 jamur dari bagian daun.
2. Isolat jamur endosimbion mangrove *R. mucronata* RAF 3.8 memiliki aktivitas antibakteri pada uji pendahuluan terhadap patogen *V. harveyi* dengan kategori kuat sebesar 18,18 mm dan uji ekstrak memiliki zona hambat pada patogen *V. harveyi* sebesar 4,12 mm sedangkan pada patogen *V. parahaemolyticus* tidak terdapat zona hambat.
3. Hasil identifikasi molekuler dari hasil yang diperoleh jamur endosimbion potensial yang didapat dari mangrove *R. mucronata* yang memiliki kemiripan sebesar 100% dengan jamur *S. brevacaulis*.

### 5.2 Saran

Saran dari penelitian adalah dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakterisasi senyawa aktif yang terkandung dalam jamur potensial yang didapat agar dapat menjadi produk bionatural yang dapat dimanfaatkan masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, S., Kadir, M.A., Akbar, A., dan Tahir, I. 2018. Asosiasi dan relung mikrohabitat gastropoda pada ekosistem mangrove. *Jurnal Enggano*. 3(1) : 22-38.
- Acharya, V. V. 2021. Modalities of protein denaturation and nature of denaturants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 69(2) : 19-24.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB, Bandung. 318 hlm.
- Aini, N. 2015. Media alternatif untuk pertumbuhan jamur menggunakan sumber karbohidrat yang berbeda. *Prosiding Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Hlm: 1-6.
- Ainy, E. Q., Ratnayani, R., dan Susilawati, L. 2015. Uji aktivitas antagonis *Trichoderma harzianum* 11035 terhadap *Colletotrichum capsici* TCKR2 dan *Colletotrichum acutatum* TCK1 penyebab antraknosa pada tanaman cabai. *Prosiding Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Hlm: 892-897.
- Akbar, N., Ibrahim, A., Haji, I., Tahir, I., Ismail, F., Ahmad, M. dan Kotta, R. 2018. Struktur komunitas hutan mangrove di Desa Tewe, Kecamatan Jailolo Selatan, Kabupaten Halmahera Barat. *Jurnal Enggano*. 3(1) : 81-97.
- Alongi, 2009. *The Energetics of Mangrove Forests*. Springer. Dordrecht, 216 hlm.
- Ananda, K., dan Sridhar, K. R. 2002. Diversity of endophytic fungi in the roots of mangrove species on the west coast of India. *Canadian Journal of Microbiology*. 48(10) : 871-878.
- Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Hilda, A., Lakshmipriya, T., dan Annadurai, G. 2007. Optimalisasi produksi keratinase ekstraseluler oleh isolat peternakan unggas *Scopulariopsis brevicaulis*. *Teknologi Sumber Daya Bio*. 98(1) : 1298-1303.

- Andrewes, P., Cullen, W. R., Feldmann, J., Koch, I., Polishchuk, E., dan Reimer, K. J. 1998. Produksi senyawa organoantimon termetilasi oleh *Scopulariopsis brevicaulis*. *Aplikasi Kimia Organologam*. 12(1) : 827-842.
- Ansel. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi Keempat*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 679 hlm.
- Ashley, K., Andrews, R. N., Cavazos, L., dan Demange, M. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 16(10) : 1147-1153.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4) : 1-3.
- Bara, R. A., Kandou, G. D., Ola, A. R., dan Posangi, J. 2015. Analisis senyawa antibiotik dari jamur simbiosis yang terdapat dalam *Ascidians Didemnum Molle* di sekitar Perairan Bunaken - Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 2(2) : 28-35.
- Barakat, R., Refoyo, I., Coteron, J., dan Franco, E. 2019. Exercise during pregnancy has a preventative effect on excessive maternal weight gain and gestational diabetes. *Braz Journal Phys Ther*. 23(2) : 148-155.
- Cahyadi, R. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) terhadap larva *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Universitas Diponegoro. Semarang. 44 hal.
- Campbell, N., A, Mitchell, L. G., Reece, J. B., Taylor, M. R., dan Simon, E. J. 2006. *Biology, 5th ed*. Benjamin Cummings Publishing Company. Redwood. San Francisco. 100 hlm.
- Davis, W. W., dan Stout, T. R. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology*. 22(4) : 659-665.
- De Hoog, G. S., J. Guarro, J. Gene, dan M. J. Figueras. 2000. *Atlas of Clinical Fungi, 2nd edn*. Amer Society for Microbiology. Washington. 1126 hlm.
- Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., dan Bossier, P. 2007. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: *Luminescent vibriosis* in aquaculture as an example. *Trends in Biotechnology*. 25(10) : 472-479.
- Dewanto, D. K., Hermawan, R., Muliadin, M., Riyadi, P. H., Aisiah, S., dan Tanod, W. A. 2021. Profil GCMS dari ekstrak daun *Rhizophora apiculata* dari pesisir Teluk Tomini, Sulawesi Tengah dengan aktivitas antibakteri dan antioksidan. *Jurnal Kelautan*. 14(1) : 30-42.

- Dhayanithi, N.B., Kumar, T. T. A., Murthy, R. G., dan Kathiresan, K. 2012. Isolation of antibacterials from the mangrove *Avicennia marina* and their activity against multi drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(3) : 892 – 895.
- Donato, C. D., Kauffman, J., Murdiyarso, B., Kurnianto, S., Stidham, M., dan Kanninen, M. 2011. Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience*. 4(5) : 293-297.
- Egra, S., Mardhiana, M., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., dan Mitsunaga, T. 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* penyebab penyakit layu. *Jurnal Agroekoteknologi*. 12(1) : 26-31.
- Fatchiyah, E. L., Arumingtyas, S., Widyarti., dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta. 165 hlm.
- Faulkner, D. J. 2000. Highlights of marine natural product chemistry (1972-1999). *Natural Product Reports*. 17(1) : 1-6.
- Febrian, A. R., Robert, A. B., Fitje, L., Remy, E. P. M., Velbe, W., dan Silvester, B. 2018. Substansi antibakteri dari jamur endofit pada mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1) : 21-32.
- Fitri, M. Z., Kismiyati., dan Mubarak, A. S. 2018. Daya antibakteri ekstrak daun api- api (*Avicennia alba*) terhadap *Vibrio harveyi* penyebab vibriosis secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 10(2) : 131-136.
- Gani, N., Momuat, L. I., dan Pitoi, M. 2013. Profil lipida plasma tikus wistar yang hiperkolesterolemia pada pemberian gedi merah (*Abelmoschus manihot* L). *Journal Mipa Unsrat Ol*. 2(1) : 44-49.
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit bakterial pada budidaya krustasea serta cara penanganannya. *Oseana*. 28(3):1-10.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk. *Jurnal SEL*. 2(2) : 57-65.
- Huang, H., Rong, H., Li, X., Tong, S., Zhu, Z., Niu, L., dan Teng, M. 2008. The consensus approach to resolving heterogeneity among haplotype inferences. *Molecular Ecology*. 18(8) : 1553-1555.
- Huang, W.Y., Cai, Y. Z., Hyde, K. D., Corke, H., dan Mei, S. 2009. Endophytic fungi from *Nerium oleander* L.(*Apocynaceae*), main constituents and antioxidant activity. *World Journal Microbiol Biotechnol*. 23(9) : 1253-1263.

- Imhoff, J. F., Kajahn., Lang, G., Bijaksana, J., dan Peters, A. 2010. Produksi dan penggunaan siklo depsipectida antimum oral, antibiotik dan insektisida. *Journal of Natural Products*. 409(1) : 267-299.
- Indriyanto. 2006. *Ekologi Hutan*. Bumi Aksara. Jakarta. 210 hlm.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., dan Prayitno, B. 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*. 3(1) : 93-100.
- Isarangkura, A., dan Sae-Hae, S. 2002. A review of the economic impacts of aquatic animal disease. *FAO Fisheries Technical Paper*. 8(1) : 253-286.
- Jawetz., Roselinda. 2005. *Corynebacteria Diphtheriae : Diagnosis Labolatorium Bakteriologi*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia. Jakarta. 128 hlm.
- Jawetz., Melnick., dan Adelberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. EGC. Jakarta. 91 hlm.
- Jithesh, M. N., Prasanth, S. R., Silvaprakash, K. R., dan Parida, A. 2006. Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant gray mangrove, *Avicennia marina* (Frosk.) vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Rep*. 25(1) : 865-876.
- Johnson, F. H., dan Shunk, I. V. 1936. An interesting new species of luminous bacteria. *Journal of Bacteriology*. 3(1) : 585-592.
- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowor, P. M., dan Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri jamur endosimbion daun mangrove *Avicennia marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal e-Biomedik*. 3(1) : 112-117.
- Kasitowati RD, Yamindago A, dan Safitri M. 2017. Potensi antioksidan dan skrining fitokimia ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*, Pilang Probolinggo. *Journal of Fisheries and Marine Science*. 1(1) : 72-77.
- Khalil, A. M. A., Abdelaziz, A. M., Khaleil, M. M., dan Hashem, A. H. 2020. Fungal endophytes from leaves of *Avicennia marina* growing in semiarid environment as a promising source for bioactive compounds. *Letters in Applied Microbiolog*. 72(3) : 263-274.
- Kokpol, U., Miles, D. H., Payne, A. M., dan Chittawong, V. 1990. Chemical constituents and bioactive compounds from mangrove plants in Attaur Rahman Studies in natural products chemistry. *Elsevier Science Publishers B. V*. 7(5) : 623-978.
- Kumala, S., dan Fitri, N. A. 2008. Screening of endophytic fungi of *Shorea balangeran* korth bark as xylanase source. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6(1) : 1-6.

- Kusmayati dan N. W. R. Agustini. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 41-53.
- Larone, D. H. 1995. *Medically Important Fungi – A Guide to Identification, 3rd ed.* ASM Press. Washington, D.C. 560 hlm.
- Lasibani, S. M., dan Eni, K. 2009. Pola penyebaran pertumbuhan propagul mangrove *Rhizophoraceae* di kawasan pesisir Sumatera Barat. *Jurnal Mangrove dan Pesisir*. 10(1) : 33-38.
- Liston, J. 1989. Microbial hazard of seafood consumption in food technology. *Anaheim*. 44(12) : 58-62.
- Liu, J., Yin, M., Zhang, W., Tsang, D. C., Wei, X., Zhou, Y., dan Hou, L. 2019. Response of microbial communities and interactions to thallium in contaminated sediments near a pyrite mining area. *Environmental pollution*. 248(1) : 916-928.
- Maisarah. 2014. *Panduan Praktis Budidaya Nanas*. Indopublika. Yogyakarta. 81 hlm.
- Maryani., Dana, D., dan Sukenda. 2002. Peranan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* L. terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(3) : 129-138.
- Mason, T. J. 1990. Sonochemistry: the use of ultrasonic in chemistry. *Royal Society of Chemistry*. 2(1) : 1-7.
- Mikha, S. 2013. *Prinsip Kerja Autoklaf*. Panduan penggunaan Autoklaf. 13 hlm.
- Mohamad, O. A. A., Li, L., Jin-Biao, M., Shaimaa, H., Lin, X., Jian-Wei, G., Bakhtiyor, A. R., Yong-Hong, L., Brian, P. H., dan Wen-Jun, L. 2018. Evaluation of the antimicrobial activity of endophytic bacterial populations from Chinese traditional medical plant licorice and characterization of the bioactive secondary metabolites produced by *Bacillus atrophaeus* against *Verticillium dahliae*. *Front Microbiol*. 9(1) : 1-14.
- Mulyani, Y. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*. 4(1) : 1-9.
- Mulyani, Y., Syaputra, N. D., Dewi, K. C., Lili, W., dan Agung, M. U. K. 2019. Total phenolic, flavonoid content and antioxidant capacity of stem bark, root, and leaves methanolic extract of *Rhizophora mucronata* Lam. *SNOFPR*. 2(1) : 85–94.
- Noor, R., Khazali, Y. M., dan Suryadiputra, I. I. N. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Ditjen PHKA. Bogor. 220 hlm.

- Noviansari, R., Sudirman., dan Siadi, K. 2013. Transformasi metil eugenol menjadi 3-(3,4 dimetoksi fenil)1 propanol dan uji aktivitasnya sebagai antibakteri. *Jurnal Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang*. 2(2) : 115-116.
- Novitasari, A.E., dan Putri, D. Z. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12) : 10-14.
- Padmaningrum, R. T., dan Marwati, D. S. 2015. Validasi metode analisis siklamat secara spektrofotometri dan turbidimetri. *Journal Sains Dasar*. 4(1) : 23-29.
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4) : 1-7.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1. Universitas Indonesia. Jakarta. 196 hlm.
- Phouc, L. H., Corteel, M., Thanh, N. C., Nauwynk, H., Pensaert, M., Alday-Sanz, V., Van Den Broeck, W., Sorgeloos, P., dan Bossier, P. 2009. Effect of dose and challenge routes of *Vibrio* spp. on co-infection with white spot syndrome virus in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 39(5) : 61-68.
- Pinelo, M., Fabro, P. D., Manzocco, L., Nunez, M. J., dan Nicoli, M. C. 2005. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Elsevier*. 92(1) : 109-117.
- Pitt, J. L., dan Hocking, A. D. 2009. Fungi and food spoilage. *Great Britain at The University Press*. 8(4) : 324-353.
- Poole, K. 2007. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Annals of Medicine*. 39(3) : 162-176.
- Prabhu, V. V., dan Guruvayoorappan, C. 2012. Phytochemical screenin of methanolic extract of mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Der Pharmacia Sinic*. 3(1) : 64-70.
- Prashant, D. S., Gour, P. P., Dubey, A. Jain, D. K., Nanda, B. K., Joshi., dan Kumar, D. 2009. Complete nucleotide sequencing, SNP identification and characterization of SRY gene in Indian Sangamneri goat. *Afric J Biotechnol*. 8(1) : 2939-2942.
- Prihanto, A. A. 2015. Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicillium notatum* ATCC 28089 dengan *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(1) : 66-70.

- Putri, A. M., Prayitno, S. B., dan Sarjito. 2012. Perendaman berbagai Dosis ekstrak daun bakau (*Rhizophora apiculata*) untuk pengobatan kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 4(4) : 141-149.
- Ramli, H. K., Yuniarti, T., Lita, N. P. S. N., dan Sipahutar, Y. H. 2020. Uji fitokimia secara kualitatif pada buah dan ekstrak air buah mangrove. *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*. 14(1) : 1-12.
- Sacc, B. 1907. Concerning findings of *Scopulariopsis brevicaulis*, in pathologically changed nails and skin. *Bratisi Lek Listy*. 67(1) : 3-8.
- Sankar, G. G., Lakshmi, S. S., Prabhakar, T., dan Kumari, P. K. 2014. Screening, partial purification and characterization of keratinase from newly isolated marine fungi. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* . 24(2) : 257-262.
- Sarjito, Apriliani, M., dan Haditomo, A. H. C. 2016. Keanekaragaman agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1) : 98-107.
- Savitri, W. N., Maria, V. W., dan Popy, H. H. 2016. Isolation and characterization of endophytic bacteria from the leaf explants of *Avicennia marina* (Forsk.). *Proceeding Seminar Nasional Biodiversitas VI*. Universitas Surabaya. Hlm: 702-714.
- Schneemann, I., Nagel, K., Kajahn, I., Labes, A., Wiese, J., dan Imhoff, J. F. 2010. Comprehensive investigation of marine Actinobacteria associated with the sponge *Halichondria panicea*. *Applied and environmental microbiology*. 76(11) : 3702-3714.
- Septiani, G., Priyatno, S., dan Anggoro, S. 2012. Antibacterial activity of jeruju (*Acanthus ilicifolius*) extracts on the in vitro growth of the *Vibrio harveyi*. *Journal Veteriner*. 13(3) : 257-262.
- Septiani, N. D., dan Ima, W. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan*. 13(1) : 1-6.
- Sinaga, E. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4) : 171 -176.
- Sinaga, N. 2016. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endosimbion Batang Tanaman Paku Harupat (Nephrolepis bisserata) dari Tanah Gambut*. (Skripsi). Universitas Riau. Pekanbaru. 50 hlm.
- Smith, L., Barrionuevo-Rosas, L., Serrano, B., Brotons, M., dan Alberro, G. 2012. *Staphylococcus aureus* CC398: Host adaptation and emergence of methicillin resistance in live stock. *mBio Journal*. 3(1) : 1–6.

- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. CV Sagung Seto. Jakarta. 811 hlm.
- Soetarno, S. 2000. Potential dan benefits of mangrove plants as source of bio-active compounds. *Jurnal Acta Pharmaceutica Indonesia*. 12(4) : 84-103.
- Sofiyani, F. 2014. *Identifikasi Isolat Jamur Endosimbion Pohon Sengon Provenan Wamena Berdasarkan Analisis RDNA ITS*. (Skripsi). UIN Sunan Kalijaga. Yogyakarta. 98 hlm.
- Sogandi. 2018. *Biologi Molekuler: Identifikasi Bakteri Secara Molekuler*. Universitas 17 Agustus 1945. Jakarta. 65 hlm.
- Soonthornchai, W., Rungrassamee, W., Karoonuthaisiri, N., Jarayabhand, P., Klinbunga, S., Soderhall, K., dan Jiravanichpaisal, P. 2010. Expression of Immunerelated genes in the digestive organ of shrimp, *Penaeus monodon*, after an oral infection by *Vibrio harveyi*. *Development and Comparative Immunology*. 21(2) : 19-28.
- Sormin, R. B. D., Nendissa, D. M., Mailoa, M. N., Rieuwpassa, F., dan Wenno, M. R. 2021. Antibacterial activity of *Rhizophora apiculata* extract originated from Inner Ambon Bay against selected pathogen bacteria. *Earth and Environmental Science*. 797(1) : 012-017.
- Strobel, G. A., dan Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 67(4) : 491- 502.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., dan Harper, J. 2004. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*. 67(2) : 257-268.
- Sudiarta, M. 2006. Ekowisata hutan mangrove, wahana pelestarian alam dan pendidikan lingkungan. *Jurnal Manajemen Pariwisata*. 5(1) : 1-25.
- Sumampouw, M., Bara, R., Awaloei, H., dan Posangi, J. 2014. Uji efek antibakteri jamur endofit akar bakau *Rhizophora stylosa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ebiomedik*. 2(1): 1-5.
- Summerbell, R. C. 1993. The benomyl test as a fundamental diagnostic method for medical mycology. *Journal Clin Microbiol*. 31(1) : 5-7.
- Supriharyono. 2009. *Konservasi Ekosistem Sumberdaya Hayati dan Wilayah Pesisir dan Laut Tropis (Cetakan Pertama, Edisi Kedua)*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 428 hlm.
- Supriyanto, Darmadji, P., dan Baidiyah, A. 2014. Pengaruh lama proses oksidasi enzimatis dan umur daun terhadap sifat kimia dan sensoris daun tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Agritech*. 34(4) : 1-4.

- Suryanto, E., dan Wehantouw, F. 2009. Aktivitas penangkap radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun. *Chemistry Progress*. 2(1) : 1-7.
- Suryono, A. 2013. *Sukses Usaha Pembibitan Mangrove Sang Penyelamat Laut*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 232 hlm.
- Susanto, D., Sudrajat., dan Ruga, R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq.) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientific*. 11(2) : 181-190.
- Thompson, E. B. 1985. *Drug Bioscreening*. Graceway Publishing Company. America. 164 hlm.
- Trianto, A., Wibowo, E., Suryono, S. R., dan Sapta, R. S. 2004. Ekstrak daun mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 9(4) : 186-189.
- Urquhart, E.A., Jones, S. H., Yu, J. W., Schuster, B. M., Marcinkiewicz, A. L., Whistler, C. A., dan Cooper, V. S. 2016. Environmental conditions associated with elevated *Vibrio parahaemolyticus* concentrations in Great Bay Estuary, New Hampshire. *Plos One*. 11(5) : 1-2.
- Verpoorte, R., dan Alfermann, A. W. 2000. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Springer. 3 hlm.
- Yano, Y., Hamano, K., Satomi, M., Tsutsui, I., Ban, M., & Aue-umneoy, D. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. *Food Control*. 38(1) : 30-36.
- Yu, Z. G., Lang, G., Kajahn, I., Schmaljohann, R., dan Imhoff, J. F. 2008. Scopularides A dan B, Siklodepsipeptida dari jamur turunan spons laut, *Scopulariopsis brevicaulis*. *Jurnal Produk Alami*. 71(1) : 1052-1054.