

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
AKTIF EKSTRAK FUNGI ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia* sp.)**

(Skripsi)

Oleh

**ADITYA PRAYOGA
NPM 1814221021**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRACT

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING AND IDENTIFICATION OF ACTIVE COMPOUND IN THE EXTRACT OF MANGROVE ENDOPHYTE FUNGI (*Avicennia* sp.)

By

ADITYA PRAYOGA

Mangrove *Avicennia* sp. is widely known as an antibacterial agent. Microbes that are symbiotic with *Avicennia* sp. also have the same ability as their host. Bacteria, such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, has long been known as bacterium that is resistant to various type of antibacterials. Fungus with codes PJD-01 and WBA-01 are found from *Avicennia* sp. that has shown an antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The purposes of the research are to identify the endophytic fungi molecularly and to identify the bioactive compounds contained in the endophytic fungi. Research was conducted on September 2022 to September 2023 at Oceanography Laboratory, Lampung University. The result of this research showed the molecular identification of fungi with code PJD-01 had similarity with *Aspergillus nidulans*. The bioactive compounds contained in the endophytic fungi includes 3 types: erythritol, sorbitol, and arabinitol.

Keywords: fungi, bioactive compounds, resistance, antibacterial, bacteria.

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK FUNGI ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia* sp.)

Oleh

ADITYA PRAYOGA

Mangrove *Avicennia* sp. sudah dikenal luas sebagai agen antibakteri. Mikroorganisme, seperti fungi, yang bersimbiosis dengan *Avicennia* sp. juga mempunyai kemampuan yang sama dengan inangnya. Fungi dengan kode PJD-01 dan WBA-01 adalah fungi yang ditemukan dari mangrove *Avicennia* sp. yang telah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dikenal sebagai bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis agen antibakteri. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi fungi endofit secara molekuler dan senyawa aktif yang terkandung pada fungi endofit. Penelitian dilaksanakan dari bulan September 2022 hingga September 2023 di Laboratorium Oseanografi, Universitas Lampung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa identifikasi molekuler fungi PJD-01 memiliki kekerabatan dengan spesies *Aspergillus nidulans*. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada fungi endofit adalah sebanyak 3 jenis senyawa, yaitu erythritol, sorbitol, dan arabinitol.

Kata kunci: fungi, senyawa aktif, resistensi, antibakteri, bakteri.

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
AKTIF EKSTRAK FUNGI ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia* sp.)**

Oleh

ADITYA PRAYOGA

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
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK FUNGI ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia* sp.)

Nama Mahasiswa : Aditya Prayoga

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814221021

Program Studi : Ilmu Kelautan

Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II




Eko Efendi, S.T., M.Si.
NIP. 197803292003121001



Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.
NIP. 198810012019032021

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan



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

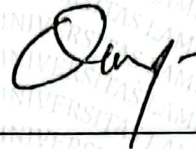
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

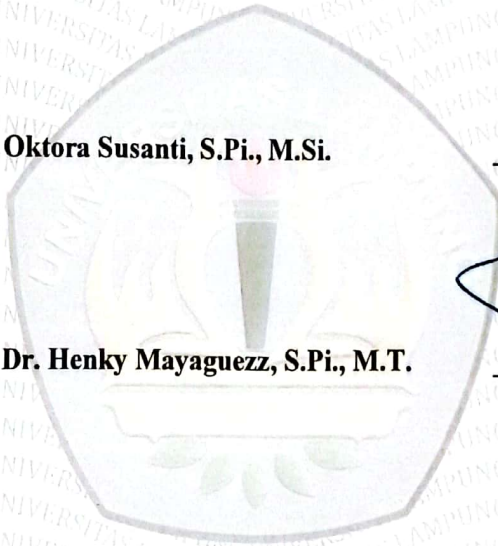
Ketua : Eko Efendi, S.T., M.Si.



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



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidavat, M.P.

NIP. 196411181989021002



Tanggal lulus ujian skripsi : 13 Juni 2024

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aditya Prayoga

NPM : 1814221021

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Fungi Endofit Mangrove (*Avicennia* sp.)

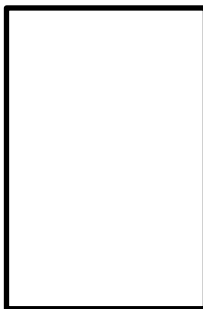
Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari karya orang lain. Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 14 Oktober 2024



Aditya Prayoga

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Desa Sritejo Kencono, Kecamatan Kota Gajah, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung, pada tanggal 27 Mei 2000 sebagai anak kedua dari pasangan suami istri Bapak Maryanto dan Ibu Kurnia Wati. Penulis memiliki satu orang kakak perempuan bernama Desti Anggraini Kholijah dan adik laki-laki bernama M. Habibussalam.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 1 Rajabasa, Bandar Lampung pada tahun 2006 – 2012, pendidikan menengah pertama di SMP Al-Azhar 1 Bandar Lampung pada tahun 2012 – 2015, dan pendidikan menengah atas di SMA IT Miftahul Jannah Bandar Lampung pada tahun 2015 – 2018. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang pendidikan tinggi pada Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung di tahun 2018.

Penulis pernah mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung selama 40 hari pada tahun 2021. Penulis pernah melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) mandiri di Pantai Ketapang pada tahun 2021 dengan judul “Struktur Komunitas Ikan Karang di Perairan Pantai Ketapang, Desa Batu Menyan, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung”.

MOTO HIDUP

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS. Al Insyirah: 5)

“Allah pencipta langit dan bumi. Apabila Dia hendak menetapkan sesuatu, Dia hanya berkata kepadanya, “Jadilah!” Maka jadilah sesuatu itu”

(QS. Al Baqarah: 117)

“Kegagalan adalah selangkah dari keberhasilan”

(Aditya Prayoga)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT atas karunia dan rahmat yang Engkau berikan, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam selalu dicurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW.

Dengan rasa syukur dan segala kerendahan hati kupersembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta sepanjang hidupku:

Orang tuaku tercinta yang telah memberikan limpahan cinta dan kasih sayang yang tak terbatas, selalu menguatkan, mendoakan serta senantiasa memberi dukungan dalam segala langkahku.

Adikku tersayang, Meisya Arnetta, yang selalu memberi semangat, dukungan, dan doa selama ini.

Bapak dan ibu dosen yang telah memberikan ilmu dengan tulus dan ikhlas serta teman teman Prodi Ilmu Kelautan 2018.

Serta

Almamaterku tercinta Universitas Lampung

SANWACANA

Puji syukur selalu terpanjatkan kepada ke hadirat Allah SWT, tak lupa sholawat dan salam penulis curahkan dan limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah melimpahkan segala rahmat beserta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Fungi Endofit Mangrove (*Avicennia* sp.)”. Skripsi disusun untuk memenuhi syarat lulus sebagai Sarjana Sains (S.Si.).

Proses penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, bimbingan, serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. 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. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T. selaku Ketua Program Studi Ilmu Kelautan dan selaku Dosen Pembahas yang selalu memberikan bimbingan serta arahan dalam proses perkuliahan dan penyusunan skripsi.
4. Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang membantu memberi arahan serta bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.
5. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberi saran serta masukan dalam menyelesaikan skripsi.
6. Dosen serta staf dari Ilmu Kelautan Universitas Lampung yang telah memberi pengetahuan serta membantu dalam melaksanakan penelitian.
7. Orang tua, saudara, dan keluarga besar tercinta yang telah memberikan banyak dukungan, doa, dan dorongan baik moril maupun material.

8. Agung Mas, Melisa Theresia, Dwi Puspita Sari, Aqilla Fadya, R. Nata Trisna, Bagus Purnomo Aji, dan Dewi Ratna Sari yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian di laboratorium.
9. Teman-teman Ilmu Kelautan angkatan 2018 yang selalu memberi bantuan dan dukungan selama perkuliahan ini.

Semoga bantuan dan dukungan yang telah diberikan mendapat pahala dan hikmah dari Allah SWT. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, karena keterbatasan pengetahuan dan kemampuan, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca sangat diharapkan. Selain itu, semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Oktober 2024

Aditya Prayoga

NPM. 1814221021

DAFTAR ISI

	Halaman
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Fungi Endofit Mangrove	5
2.2 Metabolit Sekunder dan Potensi Fungi Endofit Mangrove.....	6
2.3 Bakteri <i>Multidrug Resistance</i> (MDR).....	8
2.3.1 <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
III. METODOLOGI	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Metode Penelitian	14
3.4 Tahapan Penelitian.....	14
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	14
3.4.2 Pembuatan Media	15
3.5 Uji Antagonis Isolat Fungi.....	15
3.6 Kultur Massal Isolat Fungi.....	16
3.7 Ekstraksi Isolat Fungi	17
3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Isolat Fungi	18
3.9 Identifikasi Molekuler Isolat Fungi	18

3.9.1	Ekstrak DNA Fungi	19
3.9.2	Amplifikasi PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	20
3.9.3	Elektroforesis	20
3.9.4	Purifikasi dan Sekuensing.....	20
3.10	Toksisitas	21
3.10.1	Uji Pendahuluan.....	21
3.10.2	Uji Utama.....	22
3.11	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GCMS)	24
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1	Uji Antagonis Isolat Fungi.....	26
4.2	Ekstraksi Fungi Endofit	27
4.3	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi terhadap Bakteri Patogen.....	27
4.4	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi Fraksi Air dan Etil Asetat terhadap Bakteri Patogen	29
4.5	Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	30
4.6	Analisis <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GCMS)	32
4.7	Identifikasi Molekuler Fungi Endofit Mangrove	35
V.	SIMPULAN DAN SARAN	38
5.1	Simpulan	38
5.2	Saran.....	38
	DAFTAR PUSTAKA	39
	LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan senyawa dan aktivitas fungi endofit mangrove	7
2. Alat yang digunakan pada penelitian	13
3. Bahan yang digunakan pada penelitian.....	14
4. Komposisi pembuatan media NA, MEA, dan MEB.....	15
5. Kategori diameter zona hambat	16
6. Nilai dan kategori toksisitas.....	24
7. Diameter zona hambat (mm) aktivitas isolat fungi terhadap bakteri patogen.....	26
8. Hasil ekstraksi fungi endofit	27
9. Rata-rata diameter zona hambat (mm) yang terbentuk dari aktivitas ekstrak fungi terhadap bakteri patogen	28
10. Rata-rata diameter zona hambat (mm) dari aktivitas fraksi air terhadap bakteri patogen.....	29
11. Rata-rata diameter zona hambat (mm) dari aktivitas fraksi etil asetat terhadap bakteri patogen	30
12. Hasil uji BSLT (<i>brine shrimp lethality test</i>) ekstrak PJD-01.....	30
13. Hasil uji BSLT (<i>brine shrimp lethality test</i>) ekstrak WBA-01	31
14. Hasil analisis GCMS senyawa ekstrak metanol fungi WBA-01 dan fungi PJD-01.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran.....	4
2. Bakteri <i>Escherichia coli</i> tipe O157:H7.....	10
3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA.....	12
4. Kromatogram GC-MS ekstrak metanol.....	32
5. Hasil elektroforesis ekstrak DNA fungi endofit.....	35
6. Pohon filogenetik kekerabatan PJD-01.....	36
7. Spesies <i>Aspergillus nidulans</i>	37

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Resistensi bakteri merupakan salah satu ancaman kesehatan yang paling serius di Indonesia. Bakteri yang tergolong resisten terhadap antibiotik dapat meningkatkan mortalitas dan morbiditas pasien, meningkatkan durasi perawatan, hingga mampu meningkatkan risiko komplikasi pasien (Dwiprahasto, 2005). Resistensi bakteri dapat terjadi karena beberapa hal, antara lain adalah mutasi genetik, transfer gen secara horizontal, perubahan target antibiotik, hingga produksi enzim yang dapat merusak antibiotik (Utami, 2011). Selain hal tersebut, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai juga menjadi salah satu alasan resistensi bakteri di Indonesia meningkat. Supriyantoro (2011) menyatakan bahwa pemberian antibiotik harus memperhatikan dosis, diagnostik, dan sasaran bakterinya. Pemberian antibiotik yang tidak sesuai akan mengakibatkan bakteri tersebut resisten.

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri MDR (*multidrug resistance*) yang seringkali ditemukan resisten terhadap antibiotik. Parashar *et al.* (2003) menjelaskan bahwa *E. coli* dapat menyebabkan terjadinya penyakit diare pada manusia. Sementara *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya pneumonia, meningitis, infeksi tenggorokan, hingga infeksi kulit (FKUI, 2002). *E. coli* dan *S. aureus* yang rentan terhadap antibiotik menyebabkan terbatasnya antibiotik yang dapat digunakan saat terjadinya infeksi bakteri terhadap manusia sehingga pencarian jenis antibiotik baru diperlukan untuk mengatasi resistensi antibiotik.

Mangrove merupakan tumbuhan yang memiliki potensi besar sebagai antibakteri. Hal tersebut disebabkan mangrove mempunyai berbagai senyawa bioaktif, seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin. Penelitian yang telah dilaksanakan oleh Doifode *et*

al. (2023) menunjukkan bahwa mangrove *Ceriops tagal*, *Bruguiera gymnorrhiza*, dan *Rhizopora mucronata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*. Penelitian Sahoo *et al.* (2012) juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri mangrove berjenis *Rhizopora mucronata*, *Exoecaria agallocha*, dan *Sonneratia alba* terhadap bakteri *S. aureus*. Meskipun mangrove memiliki potensi yang besar sebagai antibakteri, pemanfaatan mangrove secara berlebihan mampu menimbulkan kerusakan pada lingkungan. Oleh karena itu, cara lain memperoleh senyawa bioaktif dari mangrove tanpa menimbulkan kerusakan pada lingkungan adalah dengan memanfaatkan fungi endofit yang terdapat pada mangrove. Fungi endofit mangrove adalah fungi yang hidup dan bersimbiosis di dalam jaringan dari mangrove tanpa menimbulkan pada inangnya (Hakim, 2015).

Fungi endofit mangrove mampu mensintesis senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya (Dwilestari *et al.*, 2015). Menurut Suciatmih (2015), fungi endofit mempunyai aktivitas biologis terhadap beberapa serangan mikroba patogen. Menurut Patterson *et al.* (2016), fungi endofit *Aspergillus fumigatus* yang ditemukan pada mangrove *Sonneratia* sp. memiliki kandungan senyawa fumigaklavin C dan fumitremorgin C yang bersifat antifungi dan mikotoksin. Sementara itu, fungi endofit *Aspergillus niger* yang ditemukan pada mangrove *Avicennia alba* memiliki kandungan senyawa aurasperon A, fonsecinone A, dan rubrofusarin B yang bersifat sitotoksik (Šimonovicová *et al.*, 2021).

Berdasarkan berbagai kajian yang sudah ditelaah, fungi yang bersimbion dengan mangrove memiliki kemampuan antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji kemampuan fungi simbion mangrove terhadap bakteri MDR *E. coli* dan *S. aureus* untuk melihat apakah fungi simbion mangrove mempunyai kemampuan yang sama terhadap bakteri MDR. Fungi endofit yang digunakan pada penelitian adalah fungi dengan kode PJD-01 dan WBA-01 yang merupakan fungi koleksi dari Laboratorium Oseanografi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang diperoleh dari mangrove *Avicennia* sp. yang terindikasi mempunyai potensi sebagai antibakteri.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian adalah:

1. Mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak fungi endofit mangrove *Avicennia* sp. dengan kode isolat PJD-01 dan WBA-01 yang mempunyai aktivitas terhadap bakteri strain MDR *E. coli* dan bakteri strain MDR *S. aureus*, dan
2. mengidentifikasi fungi endofit mangrove *Avicennia* sp. dengan kode isolat PJD-01 secara molekuler.

1.3 Manfaat Penelitian

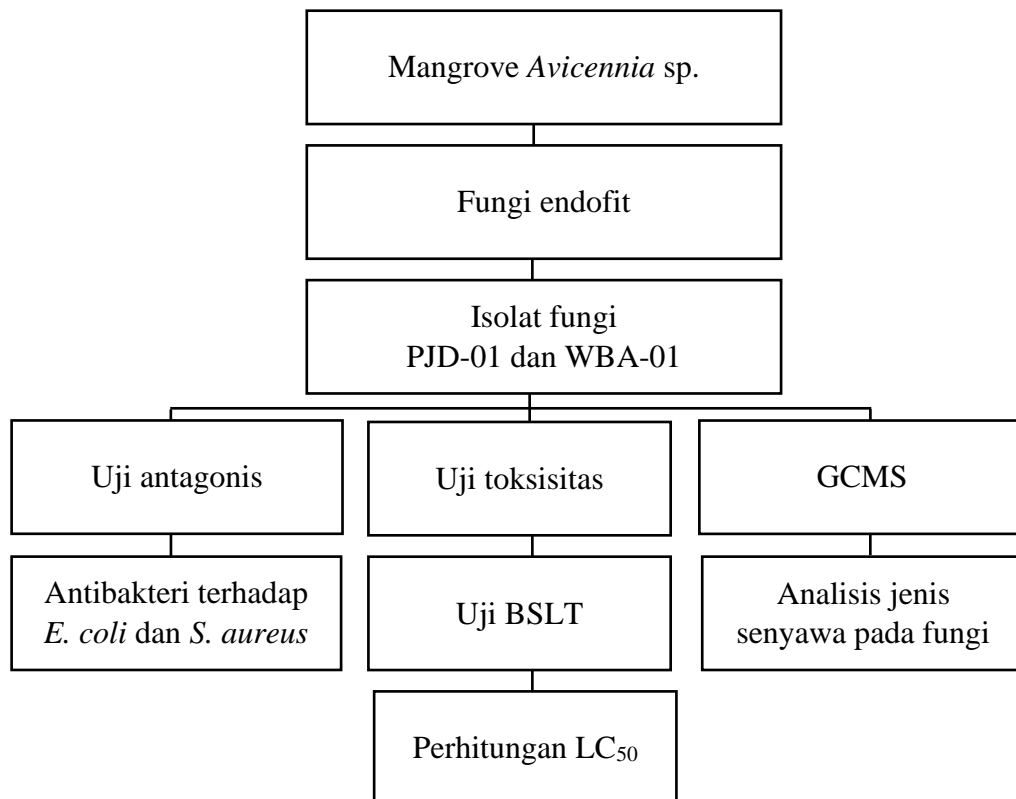
Manfaat penelitian diharapkan masyarakat mendapatkan informasi ilmiah bahwa fungi endofit mangrove memiliki kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat baru.

1.4 Kerangka Pemikiran

Mangrove merupakan tumbuhan yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Salah satu mangrove yang memiliki potensi sebagai antibakteri adalah mangrove jenis *Avicennia* sp. Meskipun berpotensi, pemanfaatan mangrove yang berlebihan dapat menimbulkan kerusakan pada lingkungan. Oleh sebab itu, peneliti melakukan penelitian dengan menggunakan fungi endofit yang diambil dari mangrove *Avicennia* sp.

Fungi endofit mangrove mempunyai senyawa bioaktif dan metabolisme sekunder yang mirip dengan inangnya. Fungi endofit yang telah didapatkan dari mangrove *Avicennia* sp. diisolasi dan diberi kode PJD-01 dan WBA-01. Potensi antibakteri dari fungi endofit mangrove kode PJD-01 dan WBA-01 dapat dilihat dari uji antagonis dan toksisitas, dimana uji antagonis dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri fungi terhadap bakteri strain MDR *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sementara uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan uji BSLT untuk menghitung LC_{50} dari fungi.

Fungi endofit mangrove yang memiliki potensi sebagai antibakteri dianalisis dengan menggunakan GCMS. Analisis berfungsi untuk menentukan senyawa yang terdapat pada fungi yang mampu melawan bakteri patogen. Kerangka pemikiran penelitian disajikan dalam bentuk bagan alur pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungi Endofit Mangrove

Fungi diartikan sebagai organisme kecil berupa filamen, umumnya mikroskopis, eukariotik, bercabang, menghasilkan spora, tidak mempunyai klorofil, dan mempunyai dinding sel yang mengandung selulosa dan kitin (Agrios, 1996). Sementara fungi endofit adalah fungi yang hidup, tumbuh, dan berkembang di dalam jaringan tanaman (Worang, 2003). Fungi hidup tanpa menimbulkan gejala atau efek merugikan pada inangnya (Powthong *et al.*, 2013). Hubungan yang dimiliki antara fungi endofit dan tumbuhan inangnya merupakan hubungan simbiosis mutualisme, dimana keduanya saling menguntungkan (Gandjar & Rohman, 2007).

Fungi endofit ditemukan pada kebanyakan varietas inang di seluruh dunia yakni pohon, semak rumput-rumputan, lumut, tumbuhan paku dan lumut kerak (Clay, 1988). Fungi biasanya terdapat pada bagian batang, daun, dan akar dari jaringan tanaman yang sehat. Pertumbuhan fungi banyak terlihat di antara sel-sel tanaman yang umumnya pada kulit batang dan bagian-bagian reproduksi. Fungi endofit hidup pada pembuluh *xylem* dan hanya akan keluar ketika inang sudah dalam keadaan terancam dan mendekati kematian. Fungi endofit mampu masuk melalui lubang-lubang alami pada tanaman inang.

Fungi endofit yang hidup intraseluler dalam jaringan tanaman sehat akan merangsang tumbuhan inang menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Hal ini dapat disebabkan adanya rekombinasi genetik atau koevolusi (Sugijanto *et al.*, 2004). Kemampuan fungi endofit dalam mensintesis senyawa metabolit sekunder menjadi peluang untuk produksi skala besar dalam waktu relatif lebih singkat tanpa adanya kerusakan ekologis yang ditimbulkan. Fungi endofit memengaruhi tumbuhan pada

jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim, hingga antibiotik (Worang, 2003).

Fungi endofit adalah salah satu mikroba yang dapat ditemukan hampir di semua tumbuhan, termasuk pada tumbuhan mangrove. Fungi endofit yang bersimbion dengan mangrove merupakan mikroba yang kaya akan produk alami bioaktif dan juga metabolit sekunder yang dapat membantu bertahan hidup (Thiyagarajan *et al.*, 2016). Selain menghasilkan senyawa bioaktif dan metabolit sekunder, Azad (2016) menjelaskan bahwa fungi endofit mangrove memiliki kemampuan untuk meningkatkan penyerapan nutrisi pada akar mangrove sehingga mangrove dapat bertahan hidup pada kondisi perairan yang ekstrem. Lingkungan mangrove yang tergolong ekstrim menyebabkan mangrove menghasilkan metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan diri (Noor *et al.*, 2006).

2.2 Metaboli Sekunder dan Potensi Fungi Endofit Mangrove

Fungi endofit yang hidup pada mangrove menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan mangrove inangnya sebagai pertahanan dirinya. Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang disintesisakan oleh organisme, seperti fungi, bakteri, dan tumbuhan, yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan organisme (Saifudin & Aziz, 2014). Selain itu, metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit mangrove juga dapat berpotensi besar dalam berbagai bidang, seperti pada bidang pertanian hingga bidang kesehatan (Gunawan *et al.*, 2016).

Metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit mangrove dapat dimanfaatkan sebagai penghasil senyawa-senyawa alami baru yang bermanfaat bagi manusia, seperti antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antikanker, hingga antidiabetes (Nawea *et al.*, 2017). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa aktif yang dihasilkan oleh fungi endofit dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan senyawa aktif yang dihasilkan inangnya. Berdasarkan penelitian Situmorang *et al.* (2021), *Aspergillus ochraceus* yang diambil dari daun *Avicennia* sp. memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar $8,01 \pm 0,45$ mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Purba *et al.*

(2022) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Avicennia* sp. menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar $7,47 \pm 0,78$ mm terhadap bakteri *S. aureus*. Strobel & Daisy (2003) menjelaskan bahwa fungi endofit mangrove memiliki senyawa-senyawa yang fungsional. Berbagai aktivitas senyawa yang dihasilkan oleh fungi endofit mangrove disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan senyawa dan aktivitas fungi endofit mangrove

No	Nama fungi	Mangrove	Senyawa	Aktivitas
1	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Avicennia alba</i>	Rubrofusarin B Fonsecinone A Aurasperon A Asperpyron B	Sitotoksik Oksidasi ksantin inhibitor Sitotoksik Oksidasi ksantin inhibitor
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Sonneratia</i> sp.	Fumigaklavin C Fumitremorgin C Physcionergosterol	Antifungi Mikotoksin Antifungi Mikotoksin
3	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Ceriops</i> sp.	Leucinostatin A	Anti-oomycetes Antikanker (Melanoma G361, HT-144, Leukaemia cell lines HSB-2, K-562)
4	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Avicennia marina</i>	6-isoprenil indole-3-Asam karboksilat, 3 β , 5 α Dihidroksi-6 β -asetoksi-ergosta-7,22-diene 3 β , 5 α Dihidroksi-6 β -fenil asetiloksiergosta-7,22-diene	Aktifitas antimikroba terhadap fungi patogen pada manusia Fungistatic terhadap fungi patogenik pada tanaman
5	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Sonneratia</i> sp.	CR377 (Pentaketida)	Antifungi <i>C. albicans</i>
6	<i>Penicillium janczewskii</i>	<i>Sonneratia</i> sp.	Peniprekuinolon Glioviktin Mullein	Nematisidal Pemacu pertumbuhan akar Sitotoksik lemah Antibakteri Antivirus Fitotoksik
7	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Sonneratia</i> sp.	Amubuic acid	Antimikosis
8	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Bruguiera</i> sp.	Senyawa volatile	Antifungi

Sumber: Kuncoro & Noor (2011); Suciatmih (2015).

2.3 Bakteri *Multidrug Resistance* (MDR)

Bakteri *multidrug resistance* (MDR) merupakan bakteri yang telah mengalami resistensi terhadap minimal satu jenis antibiotik dari lebih dari atau sama dengan 3 golongan antibiotik (Magiorakos *et al.*, 2012). Keadaan ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, mulai dari pemakaian jenis antibiotik yang tidak tepat, waktu penggunaan yang terlalu lama atau terlalu singkat, dan dosis yang tidak sesuai dengan petunjuk pemakaian (Romandini *et al.*, 2021). Resistensi antibiotik dapat semakin meningkat yang disebabkan dari pemilihan antibiotik yang digabungkan dengan kemampuan bakteri dalam memilih penyebaran dan kemampuan timbulnya resistensi (Filius *et al.*, 2005).

Penggunaan antibiotik yang berlebihan akan menyebabkan penyebaran resistensi. Hal tersebut disebabkan oleh kemampuan bakteri merekayasa gen dan penekanan selektif bakteri sehingga menyebabkan bakteri mengalami resistensi terhadap antibiotik tersebut (Dwiprahasto, 2003). Resistensi bakteri disebabkan oleh beberapa mekanisme, seperti mekanisme genetik dan mekanisme biokimia. Mekanisme genetik bakteri antara lain adalah mutasi kromosom, pertukaran langsung DNA yang membawa resistensi genetik baru, ataupun adanya DNA yang masuk melalui mekanisme transformasi (Dwiprahasto, 2005).

Mekanisme biokimia bakteri antara lain adalah produksi enzim yang dapat menonaktifkan atau menghancurkan antibiotik, perubahan struktur target antibiotik pada sel, perubahan struktur membran sel untuk mencegah masuknya antibiotik, hingga penggunaan pompa efflux untuk mengeluarkan antibiotik dari sel bakteri (Utami, 2011). Selain mekanisme genetik dan biokimia, biofilm yang terbentuk dalam perkembangan bakteri MDR juga menjadi faktor utama terjadinya resistensi bakteri. Biofilm adalah lapisan pelindung pada bakteri yang terdiri dari matriks ekstraseluler yang melindungi bakteri dari antibiotik dan sistem kekebalan tubuh (Homenta, 2016).

Bakteri MDR dibedakan menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Kedua kelompok bakteri tersebut dibedakan berdasarkan dinding selnya

(Wassenaar, 2012). Menurut Pelczar *et al.* (1993), struktur dinding sel pada bakteri gram negatif lebih kompleks jika dibandingkan dengan struktur dinding sel bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan pada dinding selnya yang terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan polisakarida, sementara bakteri gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Hal tersebut menjadikan bakteri gram negatif lebih resisten terhadap antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram positif. Contoh dari bakteri gram negatif adalah *E. coli*, sementara contoh dari bakteri gram positif adalah *S. aureus*. Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik.

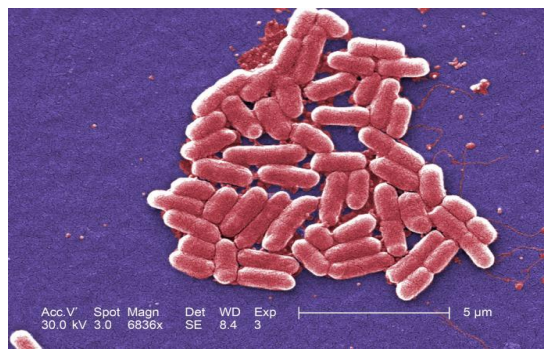
2.3.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang bersifat gram negatif yang termasuk dalam bakteri strain MDR. Bakteri *E. coli* dapat digunakan sebagai indikator sanitasi karena bakteri *E. coli* bertanggung jawab terhadap penyakit enterik di beberapa negara berkembang dan menjadi penyebab utama dari penyakit diare (Parashar *et al.*, 2003). Beneduce *et al.* (2003) menyebutkan bahwa *E. coli* serotipe O157:H7 pertama kali ditemukan di Kota Oregon, Amerika Serikat pada tahun 1982 dan kembali merebak pada tahun 1996 di Jepang yang menjangkit 9.000 orang. Menurut Songer & Post (2005), klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. coli</i> .

Bakteri *E. coli* memiliki panjang tubuh sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm , dan ditemukan berkoloni seperti Gambar 2 (Hidayati *et al.*, 2016). Bakteri ini mempunyai flagel sebagai alat geraknya yang mempunyai ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm (Radji, 2011). Bakteri *E. coli* mempunyai struktur sel yang dikelilingi oleh membran sel yang terdiri dari sitoplasma. Membran sel *E. coli* ditutupi dinding sel

yang berlapis kapsul. Dinding sel, kapsul, dan flagela merupakan tiga struktur utama antigen permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli*. Dinding sel bakteri *E. coli* berupa lipopolisakarida bersifat pirogen serta dikelompokkan sebagai antigen O. Kapsul *E. coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar dan sistem komplemen sehingga dikelompokkan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang bersifat antigen yang dikelompokkan sebagai antigen H. Bakteri *E. coli* dengan serotipe O157:H7 merupakan salah satu *E. coli* yang bersifat patogen (Gambar 2).



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* tipe O157:H7
Sumber: CDC (2006).

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup dengan keadaan adanya oksigen (aerob) maupun tanpa oksigen (anaerob). Oksigen diperlukan sebagai sumber karbon dari luar yang berfungsi sebagai tenaga untuk tumbuh secara oksidatif. Bakteri yang hidup secara anaerob mampu menghasilkan energi untuk kelangsungan hidupnya dengan fermentasi (Manning, 2010). *E. coli* merupakan bakteri yang tidak membentuk spora dan menjadi flora alami pada saluran usus mamalia. Bakteri *E. coli* dikenal sebagai bakteri koliform yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae adalah bakteri yang dapat bertahan hidup di dalam saluran pencernaan atau umumnya disebut juga sebagai bakteri enterik (Yang & Wang, 2014).

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

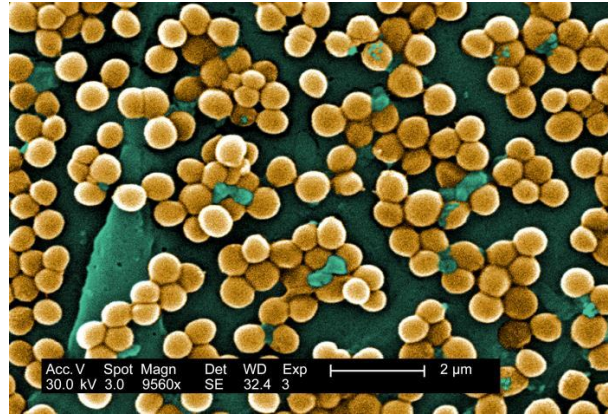
Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang termasuk ke dalam bakteri strain MDR. *S. aureus* dikenal sebagai bakteri penyebab dari intoksikasi

dan dapat mengakibatkan berbagai macam infeksi, seperti mastitis, pneumonia, meningitis, dan osteomyelitis pada manusia maupun hewan (Supardi & Sukamto, 1999). Nama *Staphylococcus aureus* berasal dari bahasa Yunani, *Staphylococci* yang berarti seikat anggur dan *Aureus* yang berarti bulat. Selain itu, *aureus* dalam bahasa latin berarti emas sehingga koloninya terlihat berwarna keemasan. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Prescott *et al.*, 2002):

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>S. aureus.</i> `

Bakteri *S. aureus* berbentuk kokus atau bulat dengan diameter antara 0,4 – 1,2 μm seperti pada Gambar 3 (Soedarto, 2015). Walaupun termasuk dalam bakteri gram positif, sel *S. aureus* yang hampir mati akan berubah menjadi bakteri gram negatif karena adanya perubahan pada komposisi peptidoglikan dinding sel (Sahli, 2018). *S. aureus* hidup dengan koloni yang tidak beraturan dan sering terlihat dalam bentuk tunggal, berpasangan, tetrad, atau membentuk rantai pendek (Budiyanto *et al.*, 2021). *S. aureus* termasuk bakteri yang tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Krihariyani *et al.*, 2016).

S. aureus tumbuh optimum pada suhu berkisar 35-37°C dengan suhu maksimum 45,4°C dan suhu minimum 6,7°C. *S. aureus* mampu tumbuh pada keadaan pH 4,0-9,8 dengan pH optimum pada kisaran 7,0-7,5 (Sjoekoer & Roekistingsih, 2003). *S. aureus* dapat hidup dalam kondisi aerob maupun anaerob, dimana pada kondisi anaerob, *S. aureus* memerlukan urasil untuk pertumbuhannya (Mahruwala & Boyd, 2017). Pertumbuhan *S. aureus* akan optimal jika terdapat sebelas asam amino. Media sintetik yang tidak memiliki asam amino dan protein tidak dapat ditumbuhi oleh *S. aureus* (Supardi & Sukamto, 1999).



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus* MRSA
Sumber: CDC (2005).

S. aureus tersebar luas di alam dan ada juga yang hidup sebagai flora normal pada manusia. Kurang lebih 25-30% manusia membawa bakteri *S. aureus* dalam rongga hidung dan kulitnya (Soedarto, 2015). *S. aureus* hidup sebagai saprofit dalam saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan, seperti mulut, hidung, dan tenggorokan dan akan keluar ketika batuk atau bersin. Selain itu, bakteri ini juga dapat ditemukan pada pori-pori permukaan kulit, saluran usus, dan kelenjar keringat (Haag *et al.*, 2019).

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan mulai September 2022 hingga September 2023. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Hampir seluruh penelitian dilakukan di Laboratorium Oseanografi, kecuali proses identifikasi molekuler yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat yang digunakan pada penelitian

No.	Alat	Keterangan
1.	Autoclaf	Alat untuk mensterilkan alat dan bahan penelitian.
2.	Bunsen	Alat untuk mensterilkan bagian dalam laminar <i>air flow</i> .
3.	Cawan petri	Wadah untuk meletakkan media pertumbuhan mikroba.
4.	Erlenmeyer	Alat untuk membuat media.
5.	Gelas ukur	Alat untuk mengukur pelarut saat pembuatan media.
6.	<i>Hot plate</i>	Alat untuk menghomogenkan media.
7.	Inkubator	Tempat menginkubasikan mikroba pada suhu terkontrol.
8.	Jangka sorong	Alat untuk mengukur zona bening.
9.	Jarum ose	Alat untuk meninokulasikan mikroba.
10.	Jas lab	Alat pelindung untuk menjaga tubuh tetap steril.
11.	Kamera ponsel	Alat yang digunakan untuk dokumentasi penelitian.
12.	Laminar <i>air flow</i>	Tempat dilaksanakannya kegiatan penelitian.
13.	Laptop	Alat untuk mengolah data hasil uji.
14.	Masker	Alat pelindung untuk mencegah terjadinya kontaminasi.
15.	Pinset	Alat untuk mengambil kertas cakram.
16.	Pipet tetes	Alat untuk mengambil larutan.
17.	Shaker	Alat untuk mencampur bakteri agar tidak menggumpal.
18.	Tabung reaksi	Wadah untuk media tumbuh isolat dan bakteri patogen.
19.	Sarung tangan medis	Alat pelindung tangan untuk mencegah kontaminasi.
20.	Timbangan digital	Alat untuk menimbang media.
21.	<i>Paper disk</i>	Alat yang digunakan pada uji antagonis.
22.	<i>Chamber</i>	Alat untuk menyimpan bakteri dan media saat penelitian.
23.	Kertas saring	Alat untuk menyaring hasil meserasi.

Tabel 2. Alat yang digunakan pada penelitian (lanjutan)

No.	Alat	Keterangan
24.	<i>Rotary evaporator</i>	Alat untuk menguapkan metanol.
25.	GC-MS QP2010S	Alat yang digunakan pada analisis senyawa.
26.	Tabung PCR, mesin PCR	Alat yang digunakan pada analisis PCR.
27.	Tank elektroforesis, UV transilluminator	Alat yang digunakan untuk elektroforesis.
28.	Mega 6, Bioedit	Aplikasi untuk menganalisis data sekuensis.
29.	<i>Separatory funnel</i>	Alat berbentuk corong untuk memisahkan ekstrak cair.
30.	Plastik	Alat untuk membungkus alat yang akan disterilisasi.
31.	Kasa dan kapas	Alat untuk menutup tabung dan erlenmeyer.
32.	karet	Alat untuk mengikat plastik.
33.	Kertas label	Bahan untuk menandakan sampel dan media.

Bahan yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan yang digunakan pada penelitian

No	Bahan	Keterangan
1.	Alkohol 70%	Bahan untuk mensterilkan alat dan peneliti.
2.	Air laut steril	Bahan untuk melarutkan media bakteri dan fungi.
3.	Akuades	Bahan untuk melarutkan media bakteri air tawar dan untuk mensterilkan alat di autoclaf.
4.	Metanol teknis	Bahan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi fungi.
5.	Chloramphenicol	Bahan yang digunakan pada kontrol positif.
6.	<i>Artemia</i> Sp.	Bahan yang digunakan pada uji toksisitas.
7.	Media MEA	Media yang digunakan untuk pertumbuhan fungi.
8.	Media MEB	Media yang digunakan untuk pertumbuhan fungi saat kultivasi.
9.	Fungi PJD-01 dan WBA-01	Fungi uji yang digunakan pada penelitian.
10.	Baktei strain MDR <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian.
11.	Kertas label	Bahan untuk menandakan sampel dan media.
12.	Spritus	Bahan bakar yang digunakan pada bunsen.
16.	Gas nitrogen	Bahan pengeringan ekstrak.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan mengacu pada penelitian serupa yang dilakukan Putri (2022) yakni metode eksperimental. Penelitian dilakukan dengan mengidentifikasi aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh fungi endofit.

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan dua cara, yaitu menggunakan alkohol 70% dan menggunakan autoclaf. Alat yang digunakan pada penelitian, seperti

jarum ose, pinset, jangka sorong, dan pipet tetes, disterilisasi dengan alkohol 70%. Alat-alat penelitian seperti cawan petri, tabung reaksi, dan erlenmeyer disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Bahan-bahan yang digunakan, seperti media MEA dan media MEB, disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 sampai 20 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm (Suriawiria, 2005).

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian adalah media *nutrient agar* (NA), media *malt extract agar* (MEA), dan media *malt extract broth* (MEB). Alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan media disiapkan dan bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan masing-masing media ditimbang sesuai komposisi media pada Tabel 4. Bahan-bahan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades sebanyak 1.000 mL ke dalam masing-masing erlenmeyer dan dipanaskan agar bahan-bahan larut sempurna. Media yang telah dipanaskan kemudian dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer*. Setelah dihomogenkan, media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media yang telah steril dipindahkan ke dalam cawan petri dan tabung reaksi dan disimpan di dalam inkubator.

Tabel 4. Komposisi pembuatan media NA, MEA, dan MEB

Media	Bahan	Komposisi (g)
Nutrient Agar (NA)	Nutrient Agar	28
Malt Extract Agar (MEA)	Malt	3
	Pepton	5
	Yeast	3
	Agar	15
Malt Extract Broth (MEB)	MEB	17

Sumber: Stamets (2007)

3.5 Uji Antagonis Isolat Fungi

Uji antagonis dilakukan dengan metode Kirby Bauer yang telah dimodifikasi oleh Naweia *et al.* (2017). Tahapan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Bakteri uji ditumbuhkan pada media NA dan diamati sampai bakteri mencapai

kepadatan 106 koloni/mL.

2. Jika bakteri telah mencapai kepadatan yang diinginkan, maka bakteri sebanyak 100 μ L dituangkan ke dalam cawan petri dan didiamkan selama kurang lebih 10-15 menit hingga bakteri meresap dan mengering pada media NA.
3. Pada saat menunggu media NA mengering, isolat fungi, kontrol positif (larutan chloramphenicol), dan kontrol negatif (media MEA) disiapkan untuk uji selanjutnya.
4. Isolat fungi PJD-01 dan WBA-01 ditumbuhkan pada media MEA dan didiamkan hingga fungi tumbuh melebar pada media.
5. Media yang sudah diberikan bakteri patogen kemudian ditambahkan sebagian kecil dari isolat fungi, kontrol positif, dan kontrol negatif.
6. Cawan uji disimpan selama 24-48 jam dan kemudian diamati zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Susanto *et al.* (2012) mengategorikan diameter zona hambat seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Kategori diameter zona hambat

Diameter	Kekuatan zona hambat
≤ 5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

Sumber: Susanto *et al.* (2012)

3.6 Kultur Massal Isolat Fungi

Setelah melalui tahap uji antagonis, fungi yang memiliki aktivitas terhadap bakteri uji dikultur pada media miring MEA. Kultur pada media miring MEA dilakukan untuk memperbanyak stok dan meminimalisir terjadinya kontaminasi dari mikroorganisme lain. Tahapan dari kultur massal isolat fungi adalah sebagai berikut:

1. Fungi yang dikultur ditumbuhkan pada permukaan media miring MEA dan diinkubasi selama 14-21 hari.
2. Setelah fungi tumbuh menutupi media miring, fungi dikulturkan pada media cair MEB sebanyak 100 mL pada 10 botol kaca bening berukuran 500 mL dengan cara mengiris sebagian fungi beserta media yang telah ditumbuhkan pada media miring MEA.

3. Irisan fungi tersebut diletakkan di permukaan media MEB dan dijaga agar tidak tenggelam dan diinkubasi selama 14-21 hari hingga fungi memenuhi permukaan media MEB.

3.7 Ekstraksi Isolat Fungi

Ekstraksi isolat fungi dilakukan dengan metode maserasi, yaitu tiap jenis isolat direndam dengan pelarut metanol. Tahapan dari ekstraksi isolat fungi adalah sebagai berikut:

1. Fungi yang telah dikultur pada media MEB dipisahkan antara miselium dengan media dengan cara meletakkan miselium fungi pada kertas saring dan ditunggu sambil ditekan hingga media dan miselium terpisah.
2. Isolat kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik.
3. Isolat yang telah ditimbang dimasukkan pada erlenmeyer berisi metanol yang telah diukur volumenya selama 24 jam dan diulangi sebanyak 3 kali sampai rendaman terlihat jernih.
4. Setelah direndam, filtrat diambil dengan cara disaring menggunakan kertas saring.
5. Filtrat dipindahkan ke *round bottom flask* dan dievaporasi dengan suhu 37°C menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarut teruapkan.
6. Ekstrak kasar yang terbentuk dipindahkan ke dalam *vial* 25 cc menggunakan spatula.
7. Sisa ekstrak yang menempel pada dinding *flask* diambil dengan menambahkan pelarut etil asetat dan kemudian diambil dengan menggunakan pipet tetes.
8. Larutan dikeringkan dengan dialiri nitrogen menggunakan selang untuk mendapatkan ekstrak kering (Trianto *et al.*, 2019).

Tahapan yang dilakukan pada proses fraksinasi air dan etil asetat yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak fraksi air dan etil asetat dilakukan sesuai dengan metode Can-Aké (2004), yakni sebagai berikut:

1. Ekstrak sebanyak 0,60 gram dilarutkan dengan etanol dan dilakukan partisi menggunakan 50 mL air sebanyak tiga kali.

2. Lapisan air dipartisi kembali menggunakan 50 mL etil asetat sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah (Suprijono et al., 2022).
3. Lapisan air dan etil asetat kemudian dipisahkan dan dikentalkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi air dan etil asetat (Suhaenah et al., 2018).

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Isolat Fungi

Bakteri strain MDR yang digunakan pada penelitian adalah *E. coli* yang mewakili bakteri gram negatif dan *S. aureus* yang mewakili bakteri gram positif yang telah diperoleh dari MERO (Marine Education & Research Organization) Foundation, Bali. Metode uji antibakteri yang digunakan pada penelitian adalah metode difusi. Tahapan dari uji aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi adalah sebagai berikut:

1. Bakteri MDR diremajakan terlebih dahulu dengan cara diambil sebanyak satu ose dan diletakkan pada media NB dengan komposisi 8 gram NB/L di tabung reaksi.
2. Tabung reaksi yang berisi media NB dan bakteri MDR dihomogenkan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam di atas *shaker*.
3. Kepadatan bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer.
4. Bakteri MDR yang telah diremajakan diambil sebanyak 100 μ L menggunakan mikropipet.
5. Bakteri diinokulasikan pada media NA di cawan petri dan diratakan dengan *drigalski glass*.
6. Ekstrak fungi yang digunakan dilarutkan pada metanol (1% b/v) dan diteteskan sebanyak 20 μ L pada kertas cakram dan ditunggu hingga mengering. Larutan yang digunakan pada kontrol positif chloramphenicol 1% yang telah dilarutkan dengan akuades steril pada konsentrasi 20 μ L/disk.
7. Kertas cakram yang sudah ditetesi ekstrak dari isolat fungi dan kontrol positif diletakkan pada cawan petri berisi bakteri uji dan diinkubasi selama 24-48 jam (Maisaroh, 2014).

3.9 Identifikasi Molekuler Isolat Fungi

Identifikasi isolat fungi endofit dari akar mangrove *Avicennia* sp. yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dideterminasi dengan

mengamati daerah ITS (*internal transcribed spacer*) menggunakan *primer* ITS1 dan ITS4. Selanjutnya, analisis *cluster* pada sekuens tersebut dilakukan dengan program BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) dari NCBI (National Center for Biotechnology Information). Basa nukleotida dianalisis secara lengkap di PT. Genetika Science Indonesia. Adapun langkah identifikasi molekuler dilakukan sebagai berikut:

3.9.1 Ekstrak DNA Fungi

Fungi yang berumur 2-3 minggu dipanen dengan cara ditambahkan 10 mL air steril ke dalam cawan yang berisi biakan fungi. Suspensi konidia kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus lalu disentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah proses sentrifus selesai, alkohol 70% ditambahkan sebanyak 500 μ L. Pelet tersebut disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan pelet ditambahkan 1.000 μ L larutan buffer ekstraksi DNA pertama.

Pelet yang ditambahkan buffer dihomogenkan dengan *rotamixer* hingga pelet tersuspensi merata dalam larutan lalu dimasukkan ke dalam mortar yang sebelumnya telah didinginkan 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, kemudian dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400 μ L dan dipanaskan di *waterbath* pada suhu 65° C selama 1 jam.

Fenol, kloroform, isoamil alkohol (PCI) ditambahkan sebanyak 500 μ L dan dihomogenkan yang kemudian disentrifus kembali pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah campuran terbagi menjadi 2 larutan, larutan atas yang berwarna bening diambil sebanyak 600 μ L dan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang baru. Kloroform, isoamil alkohol (CI) ditambahkan pada tabung dengan perbandingan yang sama dengan volume hasil larutan sebelumnya (1:1) dan disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit.

Setelah sentrifus selesai, larutan bagian atas diambil sebanyak 400 μL dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 mL baru. Isopropanol dingin ditambahkan dengan volume yang sama dan diaduk hingga tercampur. Larutan kemudian diinkubasi pada suhu -20°C selama 20 menit, disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan peletnya. Pelet yang telah didapatkan ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 μL dan disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan pelet yang didapatkan dikeringanginkan selama 1-2 hari.

3.9.2 Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR) dilakukan menggunakan mesin PCR Biometra T Gradient (Huang *et al.*, 2009). Amplifikasi daerah ITS rDNA sampel fungi endofit daerah ITS1 dan ITS4 dilakukan menggunakan pasangan primer ITS1 dan ITS4 sesuai dengan peta posisi yang dirancang oleh Innis *et al.*, (1990). Amplifikasi dilakukan dalam campuran reaksi 50 μL yang masing-masing mengandung sebanyak 25 μL *primer forward* ITS1, 10 μL *primer reverse* ITS4, 10 μL ddH₂O, 2 μL DNA *template* fungi, dan 3 μL buffer PCR dengan siklus termal *hot start* 5 menit pada suhu 95°C , diikuti oleh *denaturation* 1,5 menit pada suhu 94°C , *annealing* selama 1 menit pada suhu 48°C , *extension* awal 3 menit pada suhu 72°C , dan 8 menit pada suhu 72°C untuk *final extension*.

3.9.3 Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan berdasarkan yang telah dilakukan oleh Harahap (2018). Pada produk hasil amplifikasi PCR, dilakukan elektroforesis pada *gel agarose* 1% pada 100 V selama 45 menit dengan *marker DNA ladder* 1 kb. *Gel agarose* kemudian divisualisasi pada UV *transilluminator* untuk menghasilkan gambar yang digunakan untuk melihat DNA yang berhasil diekstraksi.

3.9.4 Purifikasi dan Sekuensing

Ekstrak DNA kemudian dipurifikasi mengikuti prosedur PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta. Setelah dipurifikasi, dilakukan tahap sekuensing menggunakan

dengan *primer* ITS1 dan ITS4 mengikuti prosedur *First* BASE, Singapura. Hasil Sekuens DNA yang diperoleh dibandingkan dengan *database* GenBank yang ada pada National Center for Biotechnology Information (NCBI) menggunakan program Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Sekuens tersebut dicocokkan dengan sekuens yang paling dekat. Sekuens dianggap teridentifikasi tingkat spesies jika lebih dari 95% sesuai dengan sekuens *database*. Untuk melihat kesamaan sekuens antara sampel isolat dengan *database* genbank, digunakan Multiple Sequences Alignment program Clustal Omega di European Bioinformatics Institute (www.ebi.ac.uk) untuk membuat pohon filogeni sederhana.

3.10 Toksisitas

Uji toksisitas dibagi menjadi 2 uji, yaitu uji pendahuluan dan uji utama.

3.10.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dimaksudkan untuk memperoleh nilai ambang batas atas dan nilai ambang batas bawah pada uji utama *brine shrimp lethality* (BSLT). Konsentrasi ambang batas atas adalah konsentrasi terendah dari bahan uji yang dapat mematikan larva *Artemia* sp. pada waktu pemaparan 24 jam. Konsentrasi ambang batas bawah adalah konsentrasi tertinggi dari bahan uji yang dapat menyebabkan semua larva *Artemia* sp, hidup pada waktu pemaparan 48 jam.

Adapun langkah-langkah pada uji pendahuluan toksisitas adalah sebagai berikut:

a. Persiapan wadah uji

Pada uji pendahuluan, digunakan sebanyak 30 botol *vial* berukuran 10 mL steril. Sebanyak 15 botol *vial* diisi air laut yang telah diberikan ekstrak fungi PJD-01 sebanyak 5 mL dan sebanyak 15 botol *vial* sisanya diisi air laut yang telah diberikan larutan ekstrak fungi WBA-01 sebanyak 5 mL.

b. Persiapan hewan uji

Penetasan kista *Artemia* sp. dilakukan di wadah kaca dengan cara sebanyak 1 g kista *Artemia* sp. direndam dalam air laut sebanyak 100 mL yang diberi penerangan dengan lampu listrik serta diaerasi selama 24-48 jam. *Artemia* sp. yang

menetas pada usia 24 jam adalah *Artemia* sp. yang digunakan pada uji. *Artemia* sp. yang digunakan adalah sebanyak 10 ekor pada setiap botol *vial*.

c. Pembuatan larutan stok

Larutan stok dibuat dengan ekstrak fungi PJD-01 dan WBA-01 yang telah didapatkan. Larutan stok yang dibuat adalah 10.000 ppm yang dilarutkan dengan air laut sehingga perbandingan ekstrak dan pelarut adalah 1:1.000 (1 g/L). Larutan stok 10.000 ppm dibuat dengan melarutkan 1 gram masing-masing ekstrak fungi ke dalam air laut sebanyak 1.000 mL. Larutan dihomogenkan dan disimpan. Volume yang digunakan sebagai larutan stok dihitung dengan menggunakan persamaan (1).

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2 \dots \dots \dots (1)$$

keterangan:

V_1 = volume larutan stok yang digunakan

M_1 = konsentrasi larutan stok

V_2 = volume yang diuji

M_2 = konsentrasi yang diinginkan.

d. Pelaksanaan uji pendahuluan

Pengujian BSLT menurut Juniarti *et al.* (2009) adalah *Artemia* sp. dimasukkan ke dalam wadah uji yang ditentukan perlakuannya. Pada tiap wadah uji yang telah diberi perlakuan, dimasukkan 10 *Artemia* sp. (Puspitasari *et al.*, 2018). Konsentrasi yang digunakan pada uji ini adalah 1.000, 100, 10, 1, dan 0,1 ppm. Tabung *vial* diletakkan di bawah penerangan dan diamati selama 24 jam. Tingkat toksisitas dihitung dari jumlah larva *Artemia* sp. yang mati. Kriteria standar kematian pada larva *Artemia* sp. adalah jika larva *Artemia* sp. tidak menunjukkan pergerakan.

3.10.2 Uji Utama

Adapun langkah-langkah pada uji utama toksisitas adalah sebagai berikut:

a. Persiapan wadah uji dan hewan uji

Wadah uji dan hewan uji disiapkan dengan tahapan yang sama dengan tahapan pada uji pendahuluan.

b. Pelaksanaan uji utama

Pada pelaksanaan uji utama, konsentrasi ditentukan berdasarkan nilai ambang batas atas dan ambang batas bawah yang diperoleh dari hasil uji pendahuluan. Dalam penentuan rentang konsentrasi, logaritma yang tetap harus dimiliki agar tidak terjadi kekeliruan atau eror dalam menentukan nilai LC₅₀-24 jam bahan uji (Ngatidjan, 2006). Rentang konsentrasi yang digunakan dalam uji toksisitas dapat dihitung berdasarkan persamaan (2) dan persamaan (3).

$$\text{Log} \frac{N}{n} = k \log \frac{a}{n} \dots\dots\dots(2)$$

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} \dots\dots\dots(3)$$

keterangan:

- N = konsentrasi ambang atas
- n = konsentrasi ambang bawah
- a = konsentrasi ke-1 untuk pengujian
- k = jumlah konsentrasi yang diuji (misal 5; a, b, c, d, e).

Uji toksisitas sampel dihitung berdasarkan besarnya nilai dari LC₅₀-24 jam yang mematikan *Artemia salina* sampai 50%. Perhitungan statistik LC₅₀ dihitung dengan menggunakan analisis probit. Nurhayati *et al.* (2006) menjelaskan bahwa efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian menggunakan persamaan (4).

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

Tingkat mortalitas yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengetahui hubungan antara nilai probit mortalitas dengan konsentrasi. Hubungan tersebut diperoleh dari persamaan (5),

$$Y = a + bx \dots\dots\dots(5)$$

keterangan:

- Y = nilai probit persen mortalitas
- a = konsentrasi regresi
- b = *slope*/kemiringan regresi
- x = logaritma konsentrasi bahan uji

dengan nilai a dan b didapatkan berdasarkan persamaan (6) dan persamaan (7).

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

$$b = \frac{\Sigma XY - \frac{1}{n}(\Sigma X \Sigma Y)}{\Sigma X^2 - \frac{1}{n}(\Sigma X)^2} \dots\dots\dots(7)$$

LC₅₀-24 jam 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 persamaan (8).

$$M = \frac{Y-a}{b} \dots\dots\dots(8)$$

keterangan:

n = banyaknya perlakuan

M = nilai X pada Y = 5.

Kategori toksisitas pada ekstrak Fungi PJD-01 dan WBA-01 ditentukan dengan nilai konsentrasi LC₅₀ yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai dan kategori toksisitas

No	Nilai LC ₅₀ (µg/ mL)	Kategori toksisitas
1	< 1.000	Toksik
2	> 1.000	Tidak toksik

Sumber: Meyer *et al.* (1982)

3.11 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS)

Analisis GCMS dilakukan menggunakan GCMS QP2010S. Ekstrak fungi yang telah dimaserasi diinjeksikan ke injektor GC dan kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap dibawa oleh gas pembawa menuju kolom kromatografi untuk proses pemisahan senyawa yang berdasarkan volatilitas dan interaksi dengan kolom GC. Pada tahap penguapan, oven GC disetel suhunya secara bertahap untuk memisahkan senyawa dengan titik didih yang berbeda. Selanjutnya, masing-masing senyawa akan melalui ruang pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragmen-fragmen ion yang dihasilkan akan dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatan menggunakan medan magnet atau listrik dan akan

ditangkap oleh detektor dan diubah menjadi spektrum massa. Jumlah senyawa dalam ekstrak ditunjukkan oleh puncak (*peak*) pada kromatogram, sedangkan nama atau jenis senyawa yang ada diinterpretasikan berdasarkan data spektrum dari tiap puncak dengan menggunakan metode pendekatan pustaka pada *database* GCMS (Hendayana, 1994; Pringgenies, 2009).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Kandungan senyawa pada ekstrak fungi PJD-01 dan WBA-01 antara lain adalah erythritol, arabinitol, dan glucitol.
2. Isolat PJD-01 secara molekuler memiliki kemiripan dengan fungi *Aspergillus nidulans*.

5.2 Saran

Adapun saran dari penelitian adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan senyawa yang sudah diketahui, perlu dilakukannya penelitian lanjutan senyawa lain yang berfungsi sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukannya uji lanjutan dari ekstrak fungi *A. nidulans*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 1996. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 713 hlm.
- Al-Mur, B. A. 2021. Biological activities of *Avicennia marina* roots and leaves regarding their chemical constituents. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 46(6): 5407-5419. DOI: 10.1007/s13369-020-05272-1
- Azad, K. 2016. *Fungal Endophytes that Confer Tolerance to Salt and Dry Conditions*. [Thesis]. University of Saskatchewan. Canada. 120 hlm.
- Barbieri, G., Barone, C., Bhagat, A., Caruso, G., Conley, Z. R., & Parisi, S. 2014. *The Influence of Chemistry on New Foods and Traditional Products*. Springer International Publishing. Cham. 65 hlm.
- Beneduce, L., Spano, G., & Massa, S. 2003. Escherichia coli O157:H7 general characteristics, isolation and identification techniques. *Annals of Microbiology*. 53(4): 511-527
- Bornet, F. R., Blayo, A., Dauchy, F., & Slama, G. 1996. Gastrointestinal response and plasma and urine determinations in human subjects given erythritol. *Regul Toxicol Pharmacol*. 24(2): 296-302. DOI: 10.1006/rtph.1996.0111
- Budiyanto, R., Satriawan, N. E., & Suryani, A. 2021. Identifikasi dan uji resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotic (chloramphenicol.l dan cefotaxime sodium) dari PUS infeksi piogenik di Puskesmas Proppo. *Jurnal Kimia Riset*. 6(2): 154-162.
- Cahayanti, I. A. P. A., Wartini, N., & Wrsiati. L. P. 2016. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap karakteristik pewarna alami buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 4(2): 32-41.
- Can-Aké, R., Erosa-Rejon, G., May-Pat, F., Pena-Rodriguez, L., Peraza-Sanchez, S. 2004. Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gaumeri*. *Rev. Soc. Quim. Mex*. 48: 11-14.
- CDC. 2005. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) bacteria*. Public Health Image Library (PHIL). <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10046>. Diakses pada 13 September 2024.

- CDC. 2006. *Escherichia coli O157:H7*. Public Health Image Library (PHIL). <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10068>. Diakses pada 13 September 2024.
- Clay, K. 1988. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. *Journal Ecology*. 69(1): 10-16. DOI: 10.2307/1943155
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. 2017. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17(3): 197-202. DOI: 10.25181/jppt.v17i3.336.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 1892 hlm.
- Doifode, M. R., Hosamani, A. S., Dasgupta, D., Boruah, P., Parab, M. M., & Gupta, P. P. 2023. Profiling of antibacterial compounds from selective medicinal mangrove species. *Medical Sciences Forum*. 21(1): 1-9. DOI: 10.3390/ECB2023-14357.
- Dwilestari., Awaloei, H., Posangi, J., & Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri fungi endofit pada daun mangrove *Sonneratia alba* terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal e-Biomedik*. 3(1): 394-398. DOI: 10.35790/ebm.v3i1.7414
- Dwiprahasto, I. 2003. Kebijakan penggunaan antibiotika profilaksi untuk mencegah infeksi luka operasi di rumah sakit. *Jurnal Manajemen Pelayanan Kesehatan*. 6(1): 3-8. DOI: 10.22146/jmpk.v6i01.2860
- Dwiprahasto, I. 2005. Kebijakan untuk meminimalkan risiko terjadinya resistensi bakteri di unit perawatan intensif rumah sakit. *Jurnal Manajemen Pelayanan Kesehatan*. 8(4): 177-181.
- Egra, S., Mardhiana, M., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Jurnal Agroekoteknologi*. 12(1): 26- 31. DOI: 10.21107/agrovigor.v12i1.5143
- Eliakim-Raz, N., Lador, A., Leibovici-Weissman, Y., Elbaz, M., Paul, M., & Leibovici, L. 2015. Efficacy and safety of chloramphenicol: joining the revival of old antibiotics? Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 70(4): 979-996. DOI: 10.1093/jac/dku530
- Filius, P. M., Liem, T. B., & Van Der Linden, P. D. 2005. An additional measure for quantifying antibiotic use in hospitals. *Journal Antimicrob Chemother*. 55(5): 805-808. DOI: 10.1093/jac/dki093

- FKUI. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta. 429 hlm.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 490 hlm.
- Giles, S. S., Soukup, A. A., Lauer, C., Shaaban, M., Lin, A., Oakley, B. R., Wang, C. C. C., & Keller, N. P. 2011. Cryptic *Aspergillus nidulans* antimicrobials. *Journal American Society for Microbiology*. 77(11): 3669-3675.
DOI: 10.1128/AEM.02000-10
- Gunawan, T., Chikmawati, Sobir, & Sulistijorini. 2016. Review: fitokimia genus *Baccaurea* sp. *Jurnal Bioeksperimen*. 2(2): 96-110.
DOI: 10.23917/bioeksperimen.v2i2.2488
- Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., & Penades, J. R. 2019. *Staphylococcus aureus* in animals. *Microbiology Spectrum*. 7(3): 1-19.
- Hakim, S. S. 2015. Fungi endofit: potensi pemanfaatannya dalam budidaya tanaman kehutanan. *Galam*. 1(1): 1-8.
- Harahap, M. I. 2018. Elektroforesis: analisis elektronika terhadap biokimia genetik. *Circuit: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. 2(1): 21-26.
DOI: 10.22373/crc.v2i1.3248
- Hashino, E., Kuboniwa, M., Alghamdi, S. A., Yamaguchi, M., Yamamoto, R., Cho, H., & Amano, A. 2013. Erythritol alters microstructure and metabolic profiles of biofilm composed of *Streptococcus gordonii* and *Porphyromonas gingivalis*. *Molecular Oral Microbiology*. 28(6): 435-451.
DOI: 10.1111/omi.12037
- Hasnaeni, H., Usman, S., & Wisdawati, W. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*. 5(2): 175-182.
DOI: 10.22487/j24428744.0.v0.i0.13599
- Hendayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. IKIP Semarang Press. Semarang. 259 hlm.
- Hidayati, S. N., Darmawi., & Rosmaidar. 2016. Pertumbuhan *Escharichia coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler terhadap ekstrak daun salam (*Sygyium polyanthum*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 10(2): 101-104.
DOI: 10.21157/j.med.vet..v10i2.4636
- Homenta, H. 2016. Infeksi Biofilm Bakterial. *Jurnal e-Biomedik*. 4(1): 1-11.
DOI: 10.35790/ebm.4.1.2016.11736

- Huang, J., Wu, J., Li, C., Xiao, C., & Wang, G. 2009. Specific and sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in soil with quantitative, real-time PCR assays. *Journal of Applied Microbiology*. 107(5): 1729-1739. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04364.x
- Ibrahim, O. 2021. Erythritol chemical structure, biosynthesis pathways, properties, applications, and production. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 6(3): 59-70. DOI: 10.11648/j.ijmb.20210603.11
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., & White, T. J. 1990. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. San Diego. 482 hlm.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 879 hlm.
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*brine shrimp lethality test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikirilhidrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Journal of Science*. 13(1): 50-54. DOI: 10.7454/mss.v13i1.378
- Koljalg, S., Smidt, I., Chakrabarti, A., Bosscher, D. & Mandar, R. 2020. Exploration of singular and synergistic effect of xylitol and erythritol on causative agents of dental caries. *Scientific Reports*. 10(1): 6297. DOI: 10.1038/s41598-020-63153-x.
- Krihariyani, D., Woelansari, E. D., & Kurniawan, E. 2016. Pola pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media agar darah manusia golongan O, AB, dan darah domba sebagai kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*. 3(2): 191-200.
- Kumar, A. 2020. *Aspergillus nidulans*: a potential resource of the production of the native and heterologous enzymes for industrial applications. *International Journal of Microbiology*. 2020(10): 1-11. DOI: 10.1155/2020/8894215
- Kuncoro, H. & Noor, E. S. 2011. Jamur endofit, biodiversitas, potensi, dan prospek penggunaannya sebagai sumber bahan obat baru. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 1(3): 247-262. DOI: 10.25026/jtpc.v1i3.35
- Long, S. S., Prober, C. G., & Fischer, M. 2018. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier. New York. 1662 hlm.
- Madigan, M. 2005. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall. London. 753 hlm.

- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., & Giske, C. G. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pan-drug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Journal Bacteriology*. 18(3): 268-281. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Mahruwala, A. A. & Boyd, J. M. 2017. The *Staphylococcus aureus* SrrAB regulatory system modulates hydrogen peroxide resistance factors, which imparts protection to aconitase during aerobic growth. *PLoS ONE*. 12(1): 1-30. DOI: 10.1371/journal.pone.0170283
- Maida, S. & Lestari, K. A. P. 2019. Aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *Jurnal Pijar MIPA*. 14(3): 189-191. DOI: 10.29303/jpm.v14i3.1029
- Maisaroh, D. S. 2014. *Skrining Potensi Antibakteri dari Spons Koleksi Perairan Maluku terhadap Bakteri MDR (multi drug resistant)*. [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Manik, D. F., Hertiani, T., & Anshory, H. 2014. Analisis korelasi antara kadar flavonoid dengan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah: Jurnal Mahasiswa UII*. 6(2): 1-12.
- Manning, S. 2010. *E. coli Infection*. Chelsea House Publishers. Philadelphia. 135 hlm.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., & McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant research*. 45(5): 31-34. DOI: 10.1055/s-2007-971236
- Mulyani, Y., Eri, B., & Agung, M. U. K. 2013. Peran senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Akuatika*. 4(1): 1-9.
- Nawea, Y., Mangindaan, R. E. P., & Bara, R. 2017. Uji antibakteri jamur endofit dari tumbuhan mangrove *Sonneratia alba* yang tumbuh di perairan pantai tanawangko. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1): 24-35. DOI: 10.35800/jplt.5.1.2017.14993
- Ngatidjan. 2006. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 243 hlm.
- Niaz, M., Iftikhar, T., Qureshi, F. F., & Niaz, M. 2014. Extracellular lipase production by *Aspergillus nidulans* (MBL-S-6) under submerged fermentation. *International Journal of Agriculture and Biology*. 16(3): 536-542.

- Noor, Y. R., Khazali, M., & Suryadiputra, N. N. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove*. Ditjen PHKA. Jakarta. 220 hlm.
- Nurhayati, A., Nurlita, A., & Rachmat, F. 2006. Uji toksisitas ekstrak *Euchema alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai studi pendahuluan potensi anti kanker. *Akta Kimindo*. 2(1): 41-46.
- O'Donnell, K. & Malcolm W. K. 2012. *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology*. Wiley. New York. 512 hlm.
- Parashar, U. D., Hummelman, E. G., Bresee, J. S., Miller, M. A., & Glass, R. I. 2003. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Journal Emerging Infectious Diseases*. 9(5): 565-572. DOI: 10.3201/eid0905.020562
- Patterson, T. F., Thompson, G. R., Denning, D. W., Fishman, J. A., Hadley, S., Herbrecht, R., Kontoyiannis, D. P., Marr, K. A., Morrison, V. A., Nguyeng, M. H., Segal, B. H., Steinbach, W. J., Stevens, D. A., Walsh, T. J., Wingard, J. R. Young, J. H., & Bennett, J. E. 2016. Clinical practice guideline for the diagnosis and management of Aspergillosis: 2016 Update by IDSA. *Clinical Infectious Diseases*. 63(4): 1-60. DOI: 10.1093/cid/ciw326.
- Pelczar, M. J. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Depok. 443 hlm.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., & Krieg, N. R. 1993. *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw Hill. New York. 896 hlm.
- Powthong, P., Jantrapanukorn, B., Thongmee, A., & Suntornthiticharoen, P. 2013. Screening of antimicrobial activities of the endophytic fungi isolated from *Sesbania grandiflora* (L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15(1): 1513-1522.
- Prescott, J. F., Hanna, W. J., Reid-Smith, R., & Drost, K. 2002. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Journal Canadian Veterinary*. 43(2): 107-116.
- Pringgenies, D. 2009. Bioprospeksi bakteri simbiosis dari gastropoda *Conus miles* terhadap strain bakteri MDR (*multi drug resistant*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14(1): 42-9. DOI:10.14710/ik.ijms.14.1.42-49
- Purba, P. Y., Yoswaty, D., & Nursyirwani. 2022. Antibacterial activity of *Avicennia alba* leaves and stem extracts against pathogenic bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas salmonicida*, *Staphylococcus aureus*). *Journal of Coastal and Ocean Sciences*. 3(2): 144-151.

- Puspitasari, E., Rozirwan, & Hendri, M. 2018. Uji toksisitas dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) pada ekstrak mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba*, dan *Xylocarpus granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*. 18(1): 91-103. DOI: 10.29303/jbt.v18i1.733
- Putri, A. N. 2022. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endofit akar mangrove Avicennia sp. terhadap Vibrio spp.* [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung. 45 hlm.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 320 hlm.
- Refai, M., El-Hariri, M., & Alrousy, R. 2014. *Monograph on Cryptococcus and Cryptococcosis in Man, Animals, and Birds: A Guide for Postgraduate Students in Developing Countries*. Cairo University. Cairo. 182 hlm.
- Retnaningtyas, Y., Supriyanto, G., Puspaningsih, N. N. T., Irawan, R., & Siswodihardjo, S. 2020. A novel molecular imprinting polymer for the selective adsorption of D-arabinitol from spiked urine. *Turkish Journal of Chemistry*. 44: 1265-1277. DOI: 10.3906/kim-2002-56
- Romandini, A., Pani, A., Schenardi, P. A., Pattarino, G. A. C., De Giacomo, C., & Scaglione, F. 2021. Antibiotic resistance in pediatric infections: global emerging threats, predicting the near future. *Journal Antibiotics*. 10(4): 1-12. DOI: 10.3390/antibiotics10040393
- Rompas, R. A., Edy, H. J., & Yudistira, A. 2012. Isolasi dan identifikasi flavonoid dalam daun lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Pharmacon*. 1(2): 59-63. DOI: 10.35799/pha.1.2012.487
- Sahli, I. T. 2018. *Karakterisasi Protein Biofilm Bakteri Staphylococcus aureus dan Produksi Antibodi Poliklonal pada Mencit (Mus musculus)*. [Skripsi]. Universitas Brawijaya. Malang. 80 hlm.
- Sahoo, G., Mulla, N. S. S., Ansari, Z. A., & Mohandass, C. 2012. Antibacterial activity of mangrove leaf extracts against human pathogens. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 74(4): 348-351. DOI: 10.4103/0250-474X.107068
- Saifudin & Aziz. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta. 118 hlm.
- Šimonovičová, A., Hana, V., Sanja, N., Elena, P., Hana, Š., Lucia, K., Hana, D., Barbara, S., Kateřina, K., & Domenico, P. 2021. *Aspergillus niger* environmental isolates and their specific diversity through metabolite profiling. *Frontiers in Microbiology*. 12: 1-13. DOI: 10.3389/fmicb.2021.658010

- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya. 585 hlm.
- Situmorang, D. A. G., Rozirwan, & Hendri, M. 2021. Isolasi dan aktivitas anti-bakteri jamur endofit pada mangrove *Avicennia marina* dari Pulau Payung Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 23(3): 125-133.
- Sjoekoer, M. D. & Roeskistiningsih. 2003. *Bakteriologi Medik*. Bayumedia Publishing. Malang. 373 hlm.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Sagung Seto. Jakarta. 811 hlm.
- Songer, J.G. & Post, K.W. 2005. *Veterinary Microbiology*. Elsevier. St. Louis. 1073 hlm.
- Stamets, P. 2007. Can mushrooms help save the world?. *Explore*. 2(2): 152-161. DOI: 10.1016/j.explore.2005.12.011
- Strobel, G & Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Journal American Society for Microbiology*. 67(4): 491-502. DOI: 10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003
- Suciatmih. 2015. Diversitas fungi endofit pada tumbuhan mangrove di Pantai Sampiran dan Pulau Bunaken, Sulawesi Utara. *Prosiding Seminar Nasional masyarakat Biodiversitas Indonesia*: 177-183. DOI: 10.13057/psnmbi/m010202
- Sugijanto, N.E., Indrayanto, G., & Zaini, N.C. 2004. Isolasi dan determinasi berbagai fungi endofit dari tanaman *Aglaia elliptica*, *Aglaia eusideroxylon*, *Aglaia odorata*, dan *Aglaia odoratissima*. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 5(2): 49-60.
- Suhaenah, A., Nuryanti, S., Abidin, Z., & Rahman, H. F. 2023. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun karet kebo (*Ficus elastica*) dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas dpph (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 15(1): 20-29.
- Sui-Qun, Y., Xiao-Ming, L., Gang-Ming, X., Xin, L., & Chun-Yan, A. 2018. Antibacterial anthraquinone derivatives isolated from a mangrove derived endophytic fungus *Aspergillus nidulans* by ethanol stress strategy. *Journal of Antibiotics*. 71(1): 778-784. DOI: 10.1038/s41429-018-0063-x
- Sumarni, N. K., Rahmawati, R., Syamsuddin, S., & Ruslan, R. 2019. Daya hambat ekstrak etanol sabut kelapa (*Cocos nucifera* Linn) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada tahu. *Jurnal Kimia Mula-warman*. 17(1): 45-51.

- Supardi, I., & Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni. Bandung. 290 hlm.
- Suprijono, A., Wulan, A. A. H., & Pratiwi, A. D. 2022. Aktivitas antioksidan fraksi air dan etil asetat dari ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendes* Merr. & Perry). *Journal of Pharmacy*. 11(1): 21-26.
- Supriyantoro. 2011. *Kebijakan dan Program Pemerintah Dalam Mengurangi Resistensi Antibiotik*. Cermin Dunia Kedokteran. Jakarta. 476 hlm.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinanti. Jakarta. 172 hlm.
- Susanto, D., Sudrajat, & Ritbey, R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Jurnal Universitas Mulawarman*. 11(2): 181-190.
- Thiyagarajan, S., Bavya, M., & Jamal, A. 2016. Isolation of marine fungi *Aspergillus* sp. and its in vitro antifouling activity against marine bacteria. *Journal of Environmental Biology*. 37(5): 895-903.
- Trianto, A., Nirwani, N., Susanti, O., Maesaroh, D. S., & Radjasa, O. K. 2019. The bioactivity of bacterium and fungi living associate with the sponge *Reniera* sp. against multidrug resistant *S. aureus* and *Escherichia coli*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 20(8): 2302-2307. DOI: 10.13057/biodiv/d200827
- Utami, E. R. 2011. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *El-Hayah*. 1(4): 191-198. DOI: 10.18860/sains.v0i0.1861
- Wassenaar, T. M. 2012. *Bacteria: The Benign, the Bad, and the Beautiful*. Jhon Wiley & Sons Inc. Canada. 232 hlm.
- Worang, R. L. 2003. *Fungi Endofit sebagai Penghasil Antibiotika*. Makalah Pengantar Falsafah Sains Program Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. http://rantje_worang.com. Diakses pada 26 Oktober 2023.
- Yang, X. & Wang, H. 2014. *Pathogenic E. coli*. Lacombe Research Centre. Canada. 701 hlm.