

**POTENSI JAMUR ENDOSIMBION LAMUN**  
*Thalassia hemprichii* (HEMPRICH, 1834) SEBAGAI ANTIBAKTERI  
*Aeromonas hydrophila* (STANIER, 1943)

(Skripsi)

Oleh :

**R. Nata Trisna Hardini**  
**1814221015**



**FAKULTAS PERTANIAN**  
**UNIVERSITAS LAMPUNG**  
**BANDARLAMPUNG**  
**2024**

## ABSTRACT

### THE POTENTIAL OF ENDOSYMBIONT FUNGI IN SEAGRASS *Thalassia hemprichii* (HEMPRICH, 1834) AS ANTIBACTERIAL TO *Aeromonas hydrophila* (STANIER, 1943)

By

**R. Nata Trisna Hardini**

Seagrasses possess the capacity to generate bioactive compounds that can potentially function as antimicrobial agents. Symbiotic microbes residing in seagrasses have the ability to synthesise bioactive compounds. Endosymbiotic fungi can be employed in seagrasses to mitigate the exploitation of seagrass in aquatic environments and serve as a remedy for diseases caused by *Aeromonas hydrophila* bacteria, which lead to elevated fish mortality rates. This study aimed to find endosymbiont fungi of seagrass *Thalassia hemprichii* that had antibacterial activity against *A. hydrophila* bacteria and identify potential fungi. Identification began with cell and extract activity tested against pathogenic bacteria. Potential fungi with the best activity were identified molecularly and *brine shrimp lethality test*. The results of isolation obtained 21 isolates of endosymbiont fungi with 1 isolate that had activity against *A. hydrophila*, namely isolate FTB 1.2. The identification results of FTB 1.2 isolate showed that this fungus is *Schizopyllum commune* and the BSLT test was categorized as toxic on a low scale. Further tests were needed to determine the type of compounds contained in potential endosymbiont fungi.

*Keywords* : seagrass, endosymbiont fungi, *A. hydrophila*, antibacterial activity test, *Schizopyllum commune*

## ABSTRAK

### POTENSI JAMUR ENDOSIMBION LAMUN *Thalassia hemprichii* (HEMPRICH, 1834) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Aeromonas hydrophila* (STANIER, 1943)

Oleh

**R. Nata Trisna Hardini**

Lamun memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antimikroba. Pada lamun terdapat mikroba yang hidup bersimbiosis serta dapat menghasilkan senyawa aktif. Pemanfaatan jamur endosimbion pada lamun dapat mencegah terjadinya eksploitasi lamun di perairan, serta dapat dijadikan sebagai obat penyakit yang disebabkan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan tingkat kematian ikan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mencari jamur endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophila* serta identifikasi jamur potensial. Identifikasi diawali dengan melakukan uji aktivitas sel dan ekstrak terhadap bakteri patogen. Jamur potensial dengan aktivitas paling baik diidentifikasi molekuler dan uji BSLT. Hasil dari isolasi didapatkan 21 isolat jamur endosimbion dengan 1 isolat yang memiliki aktivitas terhadap *A. hydrophila*, yaitu isolat FTB 1.2. Hasil identifikasi isolat FTB 1.2 menunjukkan bahwa jamur ini merupakan *Schizophyllum commune* serta pada uji BSLT dikategorikan toksik dalam skala yang rendah. Perlu dilakukannya uji lanjutan untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung di dalam jamur endosimbion potensial.

Kata kunci : *Lamun, jamur endosimbion, A. hydrophila, uji aktivitas antibakteri, Schizophyllum commune*

**POTENSI JAMUR ENDOSIMBION LAMUN**  
*Thalassia hemprichii* (HEMPRICH, 1834) SEBAGAI ANTIBAKTERI  
*Aeromonas hydrophila* (STANIER, 1943)

Oleh

**R. Nata Trisna Hardini**

**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** : **POTENSI JAMUR ENDOSIMBION LAMUN**  
*Thalassia hemprichii* (HEMPRICH, 1834)  
**SEBAGAI ANTIBAKTERI *Aeromonas hydrophila*** (STANIER, 1943)

**Nama Mahasiswa** : **R. Nata Trisna Hardini**

**Nomor Pokok Mahasiswa** : **1814221015**

**Program Studi** : **Ilmu Kelautan**

**Jurusan** : **Perikanan dan Kelautan**

**Fakultas** : **Pertanian**



**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

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

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

**2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

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

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

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

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

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

**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**  
NIP. 196411181989021002

**Tanggal lulus ujian skripsi : 22 Januari 2024**

## PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Bandar Lampung, 06 Mei 2024

Yang membuat pernyataan,



R. Nata Trisna Hardini

NPM. 1814221015

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada 20 September 2000 di Sumbergede, Lampung Timur sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Bapak R. Suhardiman dan Ibu Yuni Yanti. Penulis memiliki dua orang kakak yang bernama R. Fiqih Martin Hardini dan R. Niarta Cory Hardini serta satu orang adik bernama R. Lory Berliana Hardini.

Penulis menyelesaikan pendidikan mulai Taman Kanak-Kanak (TK) Aisyiyah Bustanul Athfal tahun 2006, pendidikan dasar di SD Negeri 01 Giriklopomulyo tahun 2012, pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 04 Metro tahun 2015, dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 03 Metro 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 Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Semasa menjadi mahasiswa, penulis pernah tergabung dalam Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota Bidang Kaderisasi tahun 2019-2021. 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 Kelurahan Hargomulyo, Kecamatan Sekampung, Kabupaten Lampung Timur tahun 2021. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) secara mandiri di Pantai Ketapang, Desa Batu Menyan, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran dengan judul “Kajian Daya Dukung Ekowisata Mangrove di Pantai Ketapang”.



## **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 :

Papaku R. Suhardiman dan Mamaku Yuni Yanti

Yang telah senantiasa melalui banyak perjuangan dan rasa sakit hanya untukku. Terima kasih atas semua kepercayaan dan doa yang diberikan kepada saya selama ini sehingga saya bisa sampai pada tahap Sarjana Sains.

Abang, *mba*, Adik, dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam semua proses yang saya lewati, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan sarjana.

Bapak dan Ibu dosen yang telah memberikan ilmu dengan tulus dan ikhlas, serta teman-teman seperjuangan yang selalu ada di saat senang maupun sulit kehidupan perkuliahan ini.

Dan almamater tercinta

Universitas Lampung

## **MOTO**

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S Al-Baqarah :286)

“Sesungguhnya, apa yang dijanjikan kepadamu itu pasti terjadi”

(Q.S Al-Mursalat : 7)

“Apabila sesuatu yang kau senangi tidak terjadi, maka senangilah apa yang terjadi”

(Ali bin Abi Thalib)

“Ketika dalam kesulitanmu orang-orang meninggalkanmu, itu bisa jadi karena Allah sendirilah yang akan mengurusmu”

(Imam Syafi'i)

“Terkadang Allah membiarkan kamu untuk merasakan kepahitan dunia ini supaya kamu dapat sepenuhnya menghargai manisnya iman”

(Omar Suleiman)

## SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, yang telah melimpahkan segala kenikmatan-Nya sehingga penulis mampu menyusun skripsi yang berjudul “Potensi Jamur Endosimbion Lamun *Thalassia hemprichii* (Hemprich, 1834) sebagai Antibakteri *Aeromonas hydrophila* (Stanier, 1943)”. Skripsi dapat terselesaikan dengan adanya dukungan dan bantuan dari beberapa pihak lainnya.

Penulis mengucapkan terima kasih 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. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Program Studi Ilmu Kelautan;
4. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I;
5. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II dan Dosen Pembimbing Akademik;
6. Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Penguji;
7. Papa, Mama, Abang Fiqih, *mba* Tina, *mba* Cory, *mas* Bobby, Adik Dini, Roro, Rinjani, dan Bibi yang telah mendoakan dan memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian;
8. Aqilla Fadya, Fathan al Fadhil, Asfina, Afini, Dwi, Dhila, Melin, Resti, dan Sabila yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis;
9. Bagus Purnomo Aji, Melissa Theresia, Dwi Puspitasari, Dewi Ratna Sari, Aditya Prayoga sebagai tim mikrobiologi yang senantiasa membantu penulis dalam penelitian;

10. Teman-teman seperjuangan mahasiswa Prodi Ilmu Kelautan Angkatan 2018  
Dengan adanya skripsi yang telah disusun, penulis berharap dapat membantu dan memberikan informasi kepada pembaca, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Bandar Lampung, 06 Mei 2024



R. Nata Trisna Hardini  
NPM. 1814221015

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>SANWACANA</b> .....	xi
<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.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	6
2.2 Karakteristik Biologi dan Habitat Lamun .....	8
2.3 Potensi Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	9
2.4 Mikroba Endosimbion Lamun.....	10
2.5 Bakteri Patogen <i>A. hydrophila</i> .....	11
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri .....	14
2.7 Ekstraksi .....	15
2.8 Identifikasi Jamur Endosimbion.....	17
2.8.1 Identifikasi Mikroskopis .....	17
2.8.2 Identifikasi Molekuler .....	18
2.9 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	18
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	20
3.1 Waktu dan Tempat .....	20
3.2 Alat dan Bahan .....	20
3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.3.1 Pengambilan Sampel Lamun.....	23
3.3.2 Isolasi Jamur Endosimbion Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	23

3.3.3 Pemurnian Jamur Endosimbion Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	24
3.3.4 Uji Antagonis terhadap Bakteri Patogen <i>A. hydrophila</i> .....	24
3.3.5 <i>Scale up</i> Jamur Endosimbion .....	26
3.3.6 Ekstraksi .....	26
3.3.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Potensial terhadap <i>A. hydrophila</i> .....	27
3.3.8 Identifikasi Mikroskopis .....	28
3.3.9 Identifikasi Molekuler .....	29
3.3.9.1 Ekstraksi DNA jamur .....	30
3.3.9.2 Amplifikasi PCR ( <i>polimerase chain reaction</i> ).....	31
3.3.9.3 Elektroforesis .....	31
3.3.9.4 <i>Sekuensing</i> .....	31
3.3.10 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>35</b>
4.1 Inventarisasi Isolat Jamur Endosimbion Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	35
4.2 Uji Antagonis Isolat Jamur Endosimbion Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	37
4.3 Uji Aktivitas Ekstrak Jamur Endosimbion Potensial Lamun <i>T. hemprichii</i> .....	39
4.4 Identifikasi Molekuler Jamur Endosimbion Potensial .....	41
4.5 Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	45
<b>V. PENUTUP</b> .....	<b>47</b>
5.1 Simpulan .....	47
5.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>48</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Mikroba endosimbion lamun dan aktivitasnya .....	11
2. Alat-alat yang digunakan .....	20
3. Bahan yang digunakan .....	21
4. Kategori zona hambat .....	25
5. Morfologi isolat jamur endosimbion lamun <i>T. hemprichii</i> .....	35
6. Hasil uji antagonis isolat jamur endosimbion lamun <i>T. hemprichii</i> terhadap bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	37
7. Uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endosimbion lamun <i>T. hemprichii</i> terhadap <i>A. hydrophila</i> .....	40
8. Hasil uji <i>brine shrimp lethality test</i> (BSLT) .....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian .....	5
2. Morfologi <i>T. hemprichii</i> .....	7
3. Bentuk bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	12
4. Diagram alir metode penelitian .....	22
5. Prosedur isolasi sampel lamun <i>T. hemprichii</i> .....	23
6. Prosedur pemurnian jamur.....	24
7. Prosedur uji antagonis.....	25
8. Prosedur kultivasi jamur endosimbion potensial .....	26
9. Prosedur ekstraksi jamur endosimbion potensial .....	27
10. Prosedur uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endosimbion potensial.....	27
11. Prosedur identifikasi mikroskopis jamur endosimbion potensial .....	28
12. Prosedur identifikasi molekuler .....	29
13. Prosedur uji BSLT .....	32
14. Perbedaan bakteri gram positif dan gram negatif .....	39
15. Hasil elektroforesis ekstrak DNA jamur endosimbion .....	41
16. Pohon filogenetik <i>S. commune</i> .....	42
17. Jamur <i>S. commune</i> , (A) makroskopis dan (B) mikroskopis.....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi kegiatan penelitian .....	60
2. Inventarisasi isolat jamur endosimbion lamun <i>T. hemprichii</i> .....	60
3. Aktivitas isolat FTB 1.2 terhadap <i>A. hydrophila</i> .....	61
4. Aktivitas ekstrak FTB 1.2 terhadap <i>A. hydrophila</i> .....	61
5. Tabel rendemen ekstrak jamur .....	61
6. Perhitungan konsentrasi uji toksisitas .....	61
7. Perhitungan uji toksisitas .....	62
8. Hasil <i>sekuensing</i> DNA jamur FTB 1.2 menggunakan Bioedit .....	64

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan wilayah perairannya yang memiliki beragam kekayaan sumber daya laut. Menurut Ditjen Pengelolaan Ruang Laut KKP (2016), secara keseluruhan jumlah pulau yang terdapat di Indonesia sekitar 14.572 pulau yang telah dibakukan namanya. Kekayaan laut Indonesia mencakup berbagai organisme baik flora maupun fauna, yang dapat digunakan sebagai sumber obat-obatan. Terdapat lebih dari 10.000 senyawa baru yang telah diisolasi dari berbagai sumber biota laut dan sekitar 300 paten dari senyawa tersebut berhasil dipublikasikan selama kurun waktu 30 tahun (Yan *dalam* Rasyid, 2008). Senyawa baru dapat ditemukan pada hewan laut, seperti moluska, echinodermata, koral, dan tumbuhan laut (Mulawarmanti, 2019). Tumbuhan laut antara lain alga, mangrove, dan lamun.

Lamun merupakan jenis tumbuhan yang berkeping tunggal serta termasuk dalam kelompok angiospermae. Lamun hidup dengan cara melekat pada substrat yang berada di kawasan intertidal, sehingga termasuk ke dalam jenis organisme benthik (Kurniawan, 2010). Jenis lamun yang dapat dijumpai di Indonesia terdapat 12 jenis, salah satunya yaitu *T. hemprichii*. *T. hemprichii* merupakan jenis lamun yang umum ditemukan di Pantai Ketapang serta memiliki kondisi yang tergolong baik berdasarkan pertumbuhan lamunnya. Kondisi tutupan lamun yang baik akan berdampak pada tingginya produktivitas primer yang dihasilkan ekosistem tersebut, sehingga organisme di dalamnya khususnya endosimbion, dapat tumbuh dengan baik (Kordi, 2011).

Selain itu, lamun juga memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antimikroba, di antaranya ialah tannin, saponin,

terpene, alkaloida dan glikosida (El-Hady *et al.*, 2007), antibakterial seperti alkaloid dan saponin (Soetan *et al.*, 2006), antibakteri, antifeedant, antilarva (Hua *et al.*, 2008), dan antifungi (Supaphon *et al.*, 2013). Senyawa yang dihasilkan juga memiliki peran penting terhadap sistem pertahanan dalam menghadapi predator serta mikroba patogen. Berdasarkan potensi tersebut, lamun menjadi bahan yang umum untuk dijadikan bahan uji coba dalam menciptakan obat baru.

Pada lamun sendiri terdapat mikroba yang hidup bersimbiosis serta dapat menghasilkan suatu senyawa aktif. Mikroba yang hidup pada tumbuhan inang akan menghasilkan senyawa yang sama dengan tumbuhan inangnya (Strobel *et al.*, 2003; Bara *et al.*, 2013). Salah satu mikroba yang bersimbiosis dengan lamun adalah jamur endosimbion antara lain berasal dari spesies *Trichoderma* spp. dan *Penicillium* sp. Jamur endosimbion merupakan jenis jamur yang tumbuh di bagian dalam tubuh organisme lain. Pemanfaatan jamur endosimbion lamun dapat mencegah terjadinya eksploitasi lamun di perairan, serta dapat dijadikan sebagai obat penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophila*.

*A. hydrophila* merupakan jenis bakteri patogen yang umum ditemukan serta menimbulkan kerugian pada kegiatan budi daya ikan. Angka (2001) menyatakan bahwa terdapat kematian sebanyak 80 ton ikan di daerah Jawa Barat yang disebabkan *A. hydrophila*. Kematian yang disebabkan juga dapat mencapai 80% dalam kurun waktu yang singkat (1-2 minggu), jika kondisi lingkungan bertambah buruk maka dapat mencapai nilai kematian hingga 100% (DKP, 2022). Bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu masalah serius yang selalu dihadapi oleh pembudi daya air tawar. Penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu bercak merah (*red-spot disease*). Penyakit bercak merah ditandai dengan adanya pendarahan pada kulit dan dasar sirip, umumnya menyerang budi daya ikan air tawar.

Bakteri *A. hydrophila* memproduksi toksin berupa *cytotoxin*, *exotoxins*, *hemolysins*, *endotoxins*, dan *aerolysin* sehingga menyebabkan tingkat kematian yang tinggi (Kusdawarti *et al.*, 2019). *A. hydrophila* bahkan memiliki potensi untuk

menyerang manusia, pada manusia efek yang ditimbulkan berupa diare dan infeksi gastroenteritis (Rahmaningsih, 2012).

Oleh karena tingginya tingkat kematian ikan yang disebabkan bakteri *Aeromonas hydrophila*, pencarian agen antibiotik baru yang berasal dari jamur endosimbion lamun dapat menjadi suatu solusi dalam menghambat pertumbuhannya sehingga mengurangi angka kematian pada ikan budi daya. Lamun *T. hemprichii* dipilih karena memiliki kondisi yang baik di perairan serta potensi senyawa aktif yang terdapat di dalamnya. Penggunaan jamur endosimbion karena kandungan senyawa metabolit yang dimiliki jamur akan sama dengan milik inangnya, selain itu juga dapat menghindari terjadinya eksploitasi berlebihan pada lamun.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah :

1. Penapisan jamur endosimbion lamun *T. hemprichii*,
2. uji aktivitas antibakteri jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* terhadap bakteri *A. hydrophila*, dan
3. identifikasi molekuler jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophila*.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah dapat diperolehnya informasi mengenai spesies jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophila*.

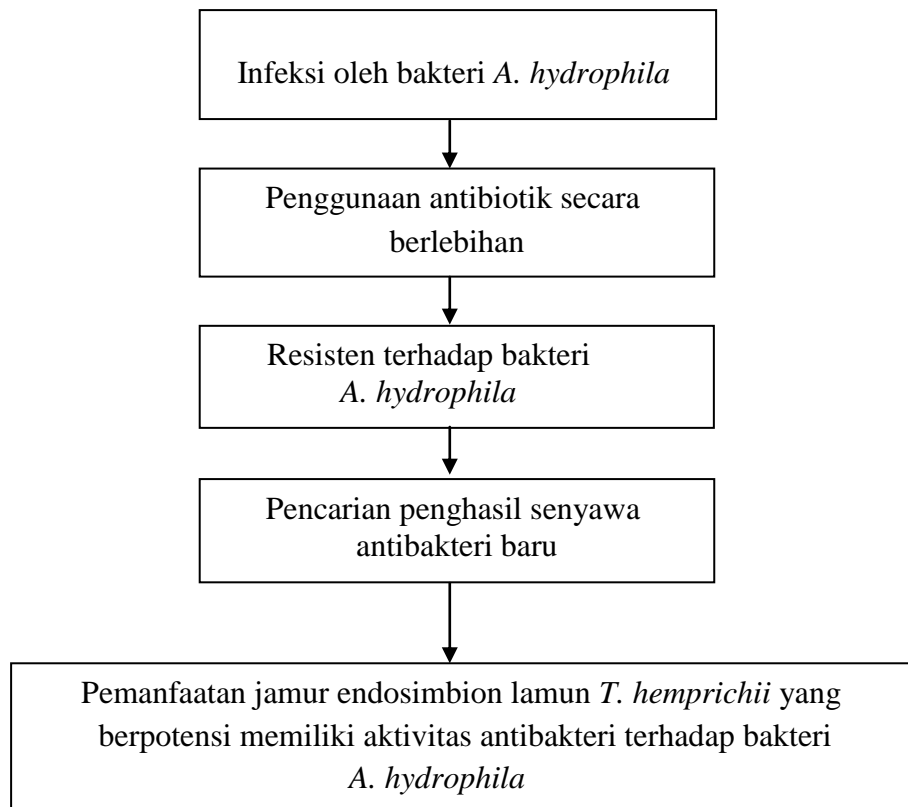
## 1.4 Kerangka Pikir

Bakteri patogen *A. hydrophila* dapat menyerang sektor perikanan dan mematikan populasi ikan budi daya secara massal sehingga dapat menimbulkan kerugian yang besar. Bakteri *A. hydrophila* dikenal di Indonesia pada tahun 1980 karena menimbulkan wabah penyakit pada ikan karper (*Cyprinus carpio*) di Jawa Barat

dan menyebabkan kematian ikan sebanyak 125 ton dengan kerugian sekitar Rp126 juta. Penyakit tersebut dikenal dengan *ulcerative disease* (Triyanto, 1990). Penyakit *ulcerative disease* menyebabkan gangguan sistemik yang menimbulkan kematian tinggi pada ikan karper karena menyerang dalam waktu singkat dan dapat menyebar ke daerah lainnya (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012).

Pencegahan infeksi *A. hydrophila* menggunakan antibiotik di pasaran sudah umum dilakukan oleh pembudi daya ikan. Namun, efek penggunaan bahan kimia untuk mengatasi permasalahan patogenik membuat resistensi mikroorganisme terhadap bahan kimia meningkat (Sugiarti dan Suwignyo, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Costa dan Cyrino (2006) di Brazil menyatakan bahwa *A. hydrophila* sudah resisten terhadap amoxicillin, ampicillin, lincomycin, novobiocin, oxacillin, penicillin, kombinasi trimetoprim dengan sulfametoxazole dan rifampicin, sehingga dibutuhkan penggunaan antibakteri lain yang bersifat alami, efektif dalam membunuh ataupun menghambat pertumbuhan bakteri, dan ramah lingkungan.

Lamun merupakan jenis tumbuhan berkeping tunggal dan tergolong kelompok angiospermae yang memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, saponin, dan tanin (Septiani *et al.*, 2017), sehingga disebut juga sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen. Senyawa yang dihasilkan oleh lamun memiliki peran penting terhadap sistem pertahanan dalam menghadapi predator serta mikroba patogen. Kondisi tersebut membuat lamun dapat dijadikan bahan untuk uji coba dalam menciptakan obat baru. Pada lamun juga terdapat jamur yang hidup bersimbiosis dan dapat menghasilkan senyawa yang sama dengan inangnya (Bara *et al.*, 2013). Oleh sebab itu, pemanfaatan jamur endosimbion lamun jenis *T. hemprichii* dapat menjadi solusi dalam pencarian sumber antibakteri *A. hydrophila*. Kerangka pikir ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

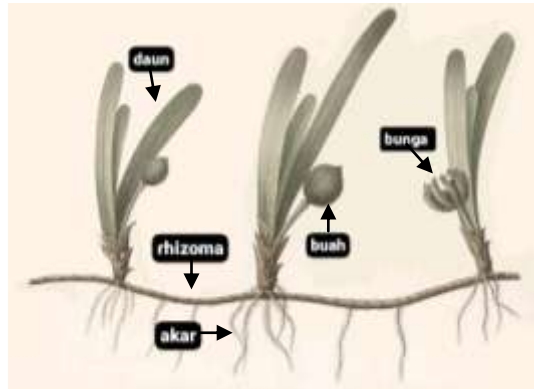
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Lamun *T. hemprichii*

*T. hemprichii* memiliki daun dengan tipe magnozosteroid, bentuk daun melengkung seperti sabit, lebih tebal bila dibandingkan dengan jenis lainnya, serta berwarna hijau tua (Den Hartog dan Kuo, 2006; Irawan, 2010). Pangkal daun terlindung selubung berwarna coklat tua. *T. hemprichii* umumnya memiliki panjang daun berukuran 1,7-10 cm dan lebar 0,5-0,8 cm. Batangnya pendek berlignin, rimpang bercorak coklat dengan akar tebal dan dilindungi oleh selubung. Menurut Newmaster *et al.* (2011), *T. hemprichii* memiliki rimpang merayap, bercabang, dan rapuh, daun *falcatus* dengan tunas hitam kecoklatan, internodus pendek, dan banyak. Jenis lamun ini paling banyak ditemukan dan biasanya berasosiasi dengan lamun jenis lain. Jenis tersebut tumbuh dengan baik hingga mencapai kedalaman 25 meter dan umumnya tumbuh pada substrat yang berpasir (Irawan, 2010).

Klasifikasi *T. hemprichii* menurut Den Hartog (1970) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Division : Anthophyta  
Class : Angiospermae  
Ordo : Helobiae  
Family : Hydrocharitaceae  
Genus : *Thalassia*  
Spesies : *T. hemprichii*



Gambar 2. Morfologi *T. hemprichii*

Sumber : Kew Science (2017)

*T. hemprichii* merupakan tumbuhan laut yang memiliki rhizoma (Gambar 2) tebal berdiameter 2-4 mm tanpa rambut-rambut kaku, panjang daun berkisar 100-300 mm dan lebar daun 4-10 mm (Soedharma *et al.*, 2007). *T. hemprichii* memiliki nodus (bagian batang tempat tumbuh daun dan tunas) yang tiap-tiapnya ditumbuhi oleh satu akar yang memiliki rambut kecil. Waycott *et al.* (2004), menyatakan bahwa daun lamun berbentuk seperti selendang dan mempunyai bentuk yang tegak. Ujung daun *T. hemprichii* berbentuk tumpul dengan gegiri kecil.

*T. hemprichii* memiliki karakteristik bentuk daun yang seperti tali (*strap-like*) yang melengkung, bagian apeks bulat, memiliki warna hijau gelap dengan jumlah helai daun dalam satu tegakan yaitu 2-5 helai. Pada bagian rhizoma horizontal (tegakan panjang) terdapat lembaran yang berwarna putih kecoklatan. Rhizoma *T. hemprichii* memiliki ukuran panjang antara 3-8,6 cm dengan panjang daunnya berkisar 0,5-15,5 cm dan lebar 0,3-1,1 cm (Wagey *et al.*, 2013). Patty *et al.* (2013) menyatakan bahwa lamun *T. hemprichii* merupakan jenis lamun yang dapat menyusun vegetasi tunggal. Vegetasi tunggal merupakan wilayah padang lamun yang tersusun atas satu jenis lamun yang membentuk padang lebat.

*T. hemprichii* merupakan salah satu jenis lamun yang tumbuh di perairan tropik dengan penyebarannya yang cukup luas (Kordi, 2011). *T. hemprichii* banyak ditemukan pada ekosistem terumbu karang serta tumbuh bersama vegetasi lainnya. Lamun *T. hemprichii* dapat tumbuh dan berkembang dalam kondisi oksigen rendah yang merupakan sifat dari daerah pasang surut (intertidal) (Azkab, 2009). Hal



tersebut karena lamun memiliki strategi metabolik yang baik sehingga lamun dapat bertahan hidup dalam kondisi oksigen yang rendah (Romimohtarto dan Juwana, 2007).

## 2.2 Karakteristik Biologi dan Habitat Lamun

Lamun merupakan tumbuhan berbunga (angiospermae) yang memiliki kemampuan beradaptasi secara penuh di perairan yang memiliki salinitas tinggi, hidup terbenam di dalam air dan memiliki rhizoma, daun, dan akar sejati. Hamparan vegetasi lamun yang menutupi suatu area pesisir disebut sebagai padang lamun (*sea-grass bed*). Padang lamun merupakan salah satu ekosistem perairan yang produktif dan penting. Hal tersebut berkaitan dengan fungsinya yaitu stabilitas dan penahanan sedimen, mengembangkan sedimentasi, mengurangi dan memperlambat pergerakan gelombang, daerah *feeding*, *nursery*, dan *spawning ground*, tempat berlangsungnya siklus nutrient. Selain itu, fungsi lain dari padang lamun yaitu dapat menyerap CO<sub>2</sub> (*carbon sink*) (Kawaroe, 2009).

Lamun merupakan tumbuhan laut satu-satunya yang memiliki bunga sehingga disebut sebagai tanaman sejati. Lamun dapat tumbuh dengan baik pada daerah terbuka pasang surut serta perairan pantai yang memiliki substrat berupa pasir, lumpur, kerikil, dan patahan karang mati dengan kedalaman 8-15 meter dan 40 meter (Noviarini dan Ermavitalini, 2015). Berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 51 Tahun 2004, kondisi air yang sesuai dengan lamun adalah yang memiliki pH pada kisaran 5-9, suhu 15-35 °C, dan salinitas antara 32-37 ppt. Padang lamun memiliki faktor-faktor yang memengaruhi distribusi serta tumbuh dan perkembangannya.

Menurut Bengen (2003), faktor-faktor pembatas ekosistem padang lamun adalah karbon (CO<sub>2</sub> dan HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), cahaya, suhu, salinitas, pergerakan air, dan nutrien. Di perairan dunia terdapat sekitar 60 jenis lamun, 12 di antaranya dapat ditemukan di Indonesia (Nontji, 2010). Jenis lamun yang ditemukan di Indonesia yaitu *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii*, *Cymodocea rotundata*, *Cymodocea serrulata*, *Halodule pinifolia*, *Halodule uninervis*, *Halophila decipiens*, *Halophila ovalis*,

*Halophila minor*, *Halophila spinulosa*, *Syringodium isoetifolium*, dan *Thalassodendron ciliatum* (Dhewani *et al.*, 2018).

Lamun bereproduksi secara seksual ataupun aseksual. Pada reproduksi seksual, lamun menghasilkan bunga dan menyebarkan polen dari bunga jantan ke bunga betina (Larkum *et al.*, 2006). Lamun menghasilkan biji yang akan tetap dorman untuk beberapa bulan, jika menemukan kondisi habitat yang sesuai biji akan tumbuh menjadi tanaman baru. Lamun juga dapat bereproduksi secara aseksual (vegetatif). Perkembangbiakkan secara vegetatif dilakukan dengan cara pemanjangan dan percabangan dari rhizoma, dengan cara ini lamun dapat pulih setelah terpaan badai ataupun hilang dimakan oleh herbivora (Clores *et al.*, 2013).

### **2.3 Potensi Lamun *T. hemprichii***

*T. hemprichii* diketahui memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai bahan obat-obatan yang berpengaruh pada sistem kardiovaskular, *antifertility*, antivirus, antiprotozoa, antifungi, dan antibakteri. *T. hemprichii* juga berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki senyawa golongan fenolik. Senyawa golongan steroid, alkaloid, dan flavonoid dalam ekstrak *T. hemprichii* menunjukkan potensi sebagai antifungi, antibakteri, *antifouling*, dan sebagai bahan baku dalam bidang farmasi (Dewi, 2012).

Ekstrak daun lamun *T. hemprichii* memiliki kandungan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, seperti *E. coli*, *S. aureus*, dan *B. subtilis*. Kandungan senyawa yang terdapat pada lamun *T. hemprichii* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, protein, quinon, saponin, sterol, dan terpenoid (Raja-Kannan *et al.*, 2013) mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan sehingga kesegaran ikan bertahan lebih lama.

Ulfa *et al.* (2014) menyatakan bahwa *T. hemprichii* merupakan tumbuhan perairan yang dapat menghasilkan antioksidan. *T. hemprichii* memiliki kandungan senyawa steroid dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang tinggi (Ravikumar *et al.*, 2008). Senyawa steroid dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui

membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur.

#### **2.4 Mikroba Endosimbion Lamun**

Lamun mampu menghasilkan senyawa yang dapat mengurangi atau mengontrol pertumbuhan pada mikroba (Kannan *et al.*, 2010). Hasil penelitian Gustavina *et al.* (2018) menunjukkan adanya senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin yang terkandung di dalam lamun. Metabolit sekunder alami dapat terbentuk karena hubungan yang saling menguntungkan antara mikroba endosimbion terhadap tumbuhan inangnya (Trisnadjaja, 2017). Senyawa yang dihasilkan lamun didasarkan pada berbagai faktor pada lingkungan serta predator di habitatnya. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Gustavina *et al.* (2018) bahwa habitat yang buruk menyebabkan lamun melepaskan metabolit sekunder yang digunakan untuk bertahan hidup, lamun cenderung menghasilkan senyawa aktif biologis sebagai bentuk perlindungan diri. Garcias-Bonet *et al.* (2012) menyatakan bahwa mikroba simbiosis berperan dalam dinamika perkembangan lamun dan pengambilan berbagai jenis nutrisi seperti karbon, nitrogen, dan fosfor dari lingkungan.

Mikroba endosimbion merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan. Mikroba endosimbion mampu membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa memberikan efek negatif bagi inangnya. Xiang (2007) membuktikan bahwa dalam satu tumbuhan dapat diisolasi lebih dari satu, bahkan puluhan jenis mikroba endosimbion. Setiap mikroba memiliki potensi untuk menghasilkan satu atau lebih senyawa bioaktif. Brahmana dan Purnama (2018) menyatakan bahwa lamun jenis *T. hemprichii* dan *Enhalus acoroides* memiliki bioaktivitas antibakteri.

Eksplorasi tentang isolasi jamur endosimbion dari tumbuhan akan bermanfaat untuk mencari jenis-jenis jamur endosimbion yang memiliki kemampuan spesifik dan unik. Berbagai jenis tumbuhan seperti tumbuhan tingkat tinggi yang banyak ditemui di darat ataupun di perairan dapat berpotensi sebagai sumber isolat jamur endosimbion. Jamur endosimbion dapat diisolasi dari jaringan akar, batang dan

daun dari tumbuhan inang (Noverita dan Sinaga, 2009). Wang *et al.* (2014) menyatakan bahwa kehadiran jenis endosimbion berhubungan dengan kondisi mikrohabitat tanaman inang dan kecocokan genotip antara tanaman inang dan endosimbion, sehingga akan berpengaruh terhadap perbedaan dalam komposisi koloni endosimbion. Jamur endosimbion dapat diisolasi dari bagian organ tumbuhan yang masih segar dan telah disterilkan permukaannya (Agusta, 2009). Contoh mikroba endosimbion dan aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mikroba endosimbion lamun dan aktivitasnya

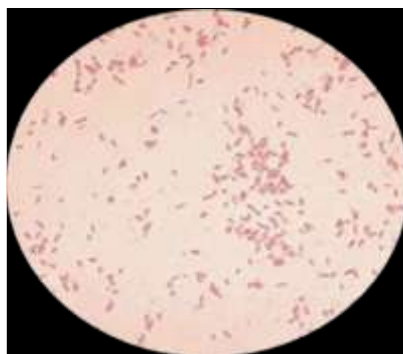
No	Mikroba endosimbion	Asal lamun	Aktivitas	Literatur
1	<i>Bacillus</i> sp.	<i>E. acoroides</i>	antimikroba	Zulkifli <i>et al.</i> (2016)
2	<i>Tricoderma</i> spp.	<i>H. ovalis</i>	antimikroba	Supaphon <i>et al.</i> (2013)
3	<i>Hyphocreales</i> sp.	<i>C. serrulata</i>	antifungi	Supaphon <i>et al.</i> (2013)
4	<i>Penicillium</i> sp.	<i>T. hemprichii</i>	antifungi	Supaphon <i>et al.</i> (2013)
5	<i>Fusarium</i> sp.	<i>T. hemprichii</i>	antifungi	Supaphon <i>et al.</i> (2013)
6	Actinomycetes	-	antibakteri	Khalid <i>et al.</i> (2021)
7	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>E. acoroides</i>	antimalaria	Jiraporn <i>et al.</i> (2014)

## 2.5 Bakteri Patogen *A. hydrophila*

*A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, sehingga pori-pori pada dinding sel gram negatif cukup besar, permeabilitasnya tinggi dapat memungkinkan adanya pelepasan kompleks ungu kristal-iodium (UK-Y) sehingga bakteri berwarna merah (Firnanda *et al.*, 2013). Bakteri gram negatif mempunyai dinding sel yang mengandung lipid, lemak, atau substansi seperti lemak dengan persentase yang lebih tinggi. Dalam proses pewarnaan gram, pencucian dengan alkohol akan menyebabkan lemak tersebut terekstraksi sehingga bakteri berwarna merah atau merah muda karena menyerap zat warna safranin (Firnanda *et al.*, 2013). Bakteri *A. hydrophila* memiliki karakteristik berbentuk batang pendek (Gambar 3), bersifat aerob dan fakultatif anaerob, tidak memiliki spora, bersifat motil, flagellum dan hidup pada kisaran suhu 27 °C (Aoki, 1999).

*A. hydrophila* adalah bakteri oportunistik yang dapat menyebabkan kematian ikan dalam waktu yang sangat singkat hingga mencapai 80-100 % (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012). Bakteri *A. hydrophila* merupakan patogen, baik pada manusia

atau hewan, khususnya ikan (Manik *et al.*, 2014). *A. hydrophila* dikenal juga sebagai bakteri oportunistik dan patogen serius pada ikan lele (Sarkar dan Rashid, 2012). Menurut Saputra dan Indaryanto (2018), sifat bakteri *A. hydrophila* yang oportunistik membuat para pembudi daya harus selalu waspada terhadap perubahan lingkungan yang bisa menyebabkan timbulnya bakteri *A. hydrophila* karena memiliki kecenderungan untuk meningkatkan patogenesitasnya ketika terjadi penurunan kualitas air dan menurunnya kondisi kesehatan ikan yang disebabkan adanya stres.



Gambar 3. Bentuk bakteri *A. hydrophila*

Sumber : Setiadi dan Edi (2021)

*A. hydrophila* menginfeksi ikan lele dan menyebabkan penyakit bercak merah (Yogananth *et al.*, 2009). Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit bercak merah seperti kehilangan nafsu makan, luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, pembengkakan, dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa (Austin and Austin, 2007). Selain itu, ikan akan menjadi lamban, cenderung diam di dasar akuarium, perdarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung serta pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan. Hemoragik yang terjadi pada pangkal sirip punggung, pangkal sirip ekor dan operkulum disebabkan toksin hemolisin dengan target memecah sel-sel darah merah, sehingga sel keluar dari pembuluh darah, menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit (Huys *et al.*, 2002).

Terjadinya ulser (kerusakan jaringan) disebabkan tingginya kepadatan bakteri pada lokasi tersebut, sehingga volume dan intensitas toksin yang dikeluarkan pada proses infeksi juga lebih tinggi pada bagian tersebut, sementara sebagian lainnya masuk ke dalam tubuh mengikuti aliran darah (Roberts *et al.*, 1993). Penyebaran

penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi pada ikan yang diserangnya (Rahmaningsih, 2012). Menurut Yin *et al.* (2009), infeksi *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian mencapai 80% pada ikan.

Rahmaningsih (2012) menyatakan bahwa *A. hydrophila* tidak hanya menyerang organisme budi daya seperti ikan, tetapi juga dapat menyerang manusia yang dapat menyebabkan infeksi gastroenteritis dan diare. Tingkat virulensi dari bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian pada ikan bergantung pada racun yang dihasilkan. Tubuh sel *A. hydrophila* di dalamnya terdapat gen *aero* dan *HlyA* yang bertanggung jawab dalam memproduksi racun aerolisin dan hemolisin dimana aerolisin merupakan protein ekstraseluler yang diproduksi oleh beberapa strain *A. hydrophila* yang bisa larut, bersifat hidrofilik dan mempunyai sifat hemolitik, serta sitolitik. Mekanisme racun aerolisin pada bakteri *A. hydrophila* dalam menyerang ikan yaitu dengan mengikat reseptor glikoprotein spesifik pada permukaan sel sebelum masuk ke dalam lapisan lemak dan membentuk lubang. Racun aerolisin yang membentuk lubang melintas masuk ke dalam membran bakteri sebagai suatu pretoksin yang mengandung peptida. Racun tersebut dapat menyerang sel-sel epithelia dan menyebabkan gastroenteritis (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012).

Klasifikasi bakteri *A. hydrophila* menurut Holt *et al.* (1998) sebagai berikut:

Phylum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudanadales
Sub Ordo	: Pseumodineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

## 2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri patogen. Hal tersebut bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukkan serta merusakkan bahan oleh mikroorganisme. Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobial, merusak keutuhan dinding sel mikrobial, menghambat sintesis protein sel mikrobial, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobial (Blair *et al.*, 2014).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kepekaan suatu senyawa terhadap bakteri patogen. Kepekaan bakteri diketahui dengan menggunakan beberapa metode seperti metode difusi, dilusi, dan turbidimetri. Metode difusi dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu metode sumuran (difusi agar) dan metode cakram Kirby Bauer (cakram) (Pratiwi, 2008). Prinsip kerja metode difusi yaitu terdifusinya suatu senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil yang didapatkan pada metode difusi berupa ada tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram sebagai indikator zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Balaouri *et al.*, 2016).

Metode sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang secara tegak lurus pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan dilakukannya suatu penelitian, lubang kemudian diisi menggunakan sampel yang akan diuji. Setelah itu dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk mengetahui ada tidaknya zona yang terbentuk di sekeliling lubang (Pelczar dan Chan, 2006). Kelebihan pada metode sumuran yaitu lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrisi, tetapi sampai ke bagian bawah. Kelemahannya yaitu pembuatan dan lokasi lubang dapat menyebabkan media retak sehingga dapat memengaruhi terbentuknya diameter zona bening saat uji sensitivitas (Nurhayati *et al.*, 2020).

Metode difusi kertas cakram atau Kirby Bauer dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba. Cawan petri yang berisi media agar diinokulasi dengan kultur bakteri patogen. Isolat antibakteri diberikan pada kertas cakram yang kemudian ditempatkan pada permukaan agar. Selama inkubasi, isolat antibakteri mengalami difusi dari cakram menuju agar sehingga membentuk zona hambat. Terbentuknya zona hambat dengan diameter yang proposional dipengaruhi oleh jumlah isolat antibakteri pada cakram, kelarutan isolat, koefisien difusi, dan keefektifan isolat antibakteri (Mardigan *et al.*, 2012). Kelebihan dari metode kertas cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Listari, 2009).

Metode dilusi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui efektivitas senyawa terhadap aktivitas suatu mikroorganisme. Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan zat pada media pembenihan yang kemudian diinokulasi dengan bakteri kemudian diinkubasikan, serta hasil pengujian didapat dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008). Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Dilusi cair digunakan untuk memperhitungkan nilai konsentrasi hambat minimal (KHM), sedangkan dilusi padat diperuntukkan guna mendapatkan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM). Adapun keuntungan dalam menggunakan metode dilusi yaitu beberapa mikroba uji dapat diuji dengan satu titik konsentrasi (Rafika *et al.*, 2022).

Metode turbidimetri merupakan cara yang digunakan untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Metode ini digunakan dalam uji antibakteri, dimana jumlah bakteri dihitung dengan membandingkan kekeruhan suspensi bakteri dengan menggunakan larutan standar McFarland. Larutan McFarland standar digunakan sebagai referensi untuk menyesuaikan kekeruhan bakteri suspensi sehingga jumlah bakteri dalam kisaran yang diberikan untuk membakukan mikroba pengujian (Rosmania dan Yanti, 2020).

## **2.7 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan, yaitu suatu metode yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan bahan campuran atau senyawa tunggal yang



terkandung dalam bahan alam menggunakan pelarut sehingga didapatkan *crude extract* (Voigt, 2000). Menurut Amiarsih *et al.* (2006), pelarut yang bagus untuk digunakan memiliki beberapa syarat, seperti tidak toksik, mampu melarutkan senyawa, mudah menguap atau dihilangkan dari ekstrak, murah, dan tidak bereaksi dengan senyawa yang diekstrak.

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat bersifat polar, semi polar, maupun nonpolar. Senyawa polar yang terkandung dalam bahan alam akan mudah larut dalam pelarut polar. Pelarut polar juga dapat melarutkan atau menyerap senyawa dengan tingkat kepolaran yang lebih rendah. Air, metanol, etanol, dan asam asetat memiliki tingkat kepolaran yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai pelarut polar. Aseton, etilasetat, dan kloroform memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dari pelarut polar dan disebut sebagai pelarut semipolar. Pelarut semipolar memiliki dua jenis kutub yang dapat melarutkan senyawa dengan sifat polar dan senyawa nonpolar. Pelarut nonpolar seperti heksana dan eter baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak (Gupta *et al.*, 2012).

Metanol (CH<sub>3</sub>OH) merupakan senyawa kimia turunan alkohol dengan berat molekul yang rendah dan tidak berwarna. Penelitian yang dilakukan Suryanto dan Wehantouw (2009) menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder, yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam daun *Artocarpus altilis* F. dibandingkan dengan etanol. Penelitian Astarina *et al.* (2013) menunjukkan bahwa metanol dapat menarik senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan glikosida dalam rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.).

Ekstraksi atau pemisahan dapat menggunakan berbagai metode, yaitu:

1. *infusion*, pemisahan menggunakan pelarut air dengan memungkinkan bahan alam untuk tetap tersuspensi dalam pelarut dari waktu ke waktu. Proses infus dapat menggunakan air dingin atau air mendidih dengan periode sekitar 15 menit (Voigt, 2000),
2. dekok, pemisahan dengan air mendidih dalam waktu yang ditentukan kemudian rebusan disaring sehingga didapatkan ekstrak pekat (Voigt, 2000),

3. perkolasi, menambahkan pelarut secara berlanjut atau menggunakan pelarut mengalir yang selalu baru. Bahan alam diberi pelarut dan didiamkan selama 4 jam dalam wadah tertutup. Setelah itu, volume pelarut ditambah sehingga terbentuk lapisan dangkal di atas bahan alam dan dibiarkan selama 24 jam. Perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya akan menetes perlahan. Pelarut ditambahkan sebanyak  $\frac{3}{4}$  dari volume yang dibutuhkan. Metode perkolasi akan menghasilkan setidaknya 95% jumlah bahan yang dapat diekstraksi (Handa *et al.*, 2008),
4. sokhletasi, metode ekstraksi dengan menggunakan alat *ekstraktor sokhlet* dan disebut dengan ekstraksi panas berkelanjutan. Bahan alam ditempatkan pada *thimble* di dalam aparat sokhlet. Pelarut di dalam *flask* dipanaskan sehingga uap mengembun pada kondensor. Ekstrak yang terkondensi akan menetes ke dalam *thimble* yang mengandung bahan alam yang akan diekstraksi. Ketika pelarut naik ke atas tabung siphon, pelarut akan tersedot ke dalam *flask*. Keuntungan dari metode ini adalah dapat menghemat penggunaan pelarut (Handa *et al.*, 2008),
5. maserasi, perendaman sampel dengan pelarut dalam suhu ruang. Bahan alam direndam ke dalam pelarut untuk mendapatkan filtrat yang mengandung senyawa bioaktif. Perendaman ditempatkan dalam wadah tertutup dibiarkan pada suhu kamar selama 1 hari hingga materi larut kemudian disaring. Proses perendaman menyebabkan pecahnya dinding sel sampel akibat perbedaan tekanan di dalam sel dan di luar sel sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Handa *et al.*, 2008).

## **2.8 Identifikasi Jamur Endosimbion**

### **2.8.1 Identifikasi Mikroskopis**

Koloni jamur yang sudah dimurnikan, kemudian diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis (analisis fenotip) yaitu dengan mengamati karakter yang meliputi bentuk, ukuran, warna, sifat permukaan (granula, berbulu, licin, dan lain-lain) serta koloninya. Selanjutnya pengamatan dilakukan secara Mikroskopis yang bertujuan untuk melihat struktur miselium dan spora. Selain itu, adanya zat-zat kimia yang dihasilkan oleh jamur seperti preparat enzim, asam-asam, alkohol dan

pigmennya, senyawa arsenik, lipid, serta antibiotik yang merupakan produk dari jamur (Suryani *et al.*, 2020).

### 2.8.2 Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler merupakan analisis yang dilakukan untuk mendapatkan informasi terkait genetik makhluk hidup. Seiring perkembangannya, identifikasi molekuler digunakan untuk berbagai macam kepentingan, mulai dari medis, hingga penelitian. Dalam bidang penelitian, penerapan identifikasi molekuler biasanya digunakan untuk mendapatkan informasi jenis suatu makhluk hidup serta dalam mengidentifikasi mikroorganisme. Ada beberapa tahapan dalam melakukan identifikasi molekuler, diantaranya ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, pembuatan gel agarosa, elektroforesis, dan analisis data *sekuensing*.

Sejak penemuan DNA (*deoxyribonucleic acid*) heliks ganda dari WatsonCrik pada tahun 1953, 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 intro, regulator gen, dan daerah urutan berulang seperti mikrosatelit, telomere, *variable number tandem repeat* (VNTR), *sequence tagged site* (STS) dan *single nucleotide polymorphism* (SNP) (Campbell *et al.*, 2002).

### 2.9 Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Penelitian fitokimia lebih ditekankan pada penelitian untuk menentukan kandungan senyawa aktif. Uji hayati yang digunakan untuk tujuan tersebut sebaiknya

bersifat sederhana, cepat, ekonomis, dan memiliki korelasi statistik yang valid dengan bioaktivitas yang diinginkan (Anderson, 1991). Menurut Meyer *et al.* (1982) salah satu uji bioaktivitas yang mudah, cepat, murah dan akurat yaitu dengan menggunakan larva udang *A. salina* Leach (Linnaeus, 1919) dikenal dengan istilah *brine shrimp lethality test* (BSLT). Uji mortalitas larva udang *A. salina* merupakan salah satu metode uji bioaktivitas pada penelitian senyawa bahan alam yang merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa.

Penerapan sistem bioaktivitas yang dilakukan dengan menggunakan larva udang tersebut, antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morpin, mikotoksin, karsinogenitas suatu senyawa dan polutan untuk air laut serta sebagai alternatif metode yang murah untuk uji toksisitas (Hamburger dan Hostettmann, 1991). Senyawa aktif yang memiliki daya bioaktivitas tinggi diketahui berdasarkan nilai *lethal concentration 50%* ( $LC_{50}$ ), yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sampai 50%. Data mortalitas yang diperoleh kemudian diolah dengan analisis probit yang dirumuskan oleh Finney (1971), untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  pada derajat kepercayaan 95%. Senyawa kimia memiliki potensi bioaktif jika mempunyai nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1.000  $\mu\text{g/mL}$  (Cahya *et al.*, 2022).

Uji BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* dilakukan dengan menetas telur-telur tersebut dalam air laut menggunakan bantuan aerasi. Telur *A. salina* akan menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam. Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT adalah yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas ekstrak, melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer *et al.*, 1982). Keuntungan penggunaan larva udang *A. salina* pada uji BSLT adalah karena sifatnya yang peka terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, mudah dibiakkan dan harganya yang murah. Sifat peka *A. salina* kemungkinan disebabkan keadaan membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang memengaruhi metabolisme tubuhnya.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2023 sampai September 2023. Lokasi pengambilan sampel di Pantai Ketapang, Desa Batu Menyan, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran. Sampel kemudian diuji di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Alat-alat yang digunakan

No	Alat	Keterangan	Fungsi
1.	Autoklaf	1 unit	Sterilisasi alat dan bahan.
2.	Bunsen	1 unit	Sterilisasi didalam <i>laminar airflow</i> .
3.	Cawan petri	Anumbra 100x15 mm <sup>2</sup>	Wadah media tumbuh mikroba.
4.	<i>Coolbox</i>	1 unit	Alat penyimpanan sampel lapangan.
5.	<i>Coolpack</i>	1 unit	Alat pendingin pada <i>coolbox</i> .
6.	Gelas ukur	500 mL	Pengukur volume cairan.
7.	<i>Hotplate</i>	1 unit	Pemanas dan pengaduk media.
8.	Inkubator	1 unit	Tempat inkubasi suhu terkontrol.
9.	Jarum ose	1 unit	Alat inokulasi mikroba.
10.	Jas lab, masker sarung tangan, penutup kepala	1 unit	Alat pelindung dan menjaga tubuh tetap steril.
11.	Kamera ponsel	1 unit	Alat dokumentasi.
12.	Kertas cakram	6 mm	Alat uji antagonis isolat pada bakteri.
13.	Labu <i>Erlenmeyer</i>	300 mL	Wadah pembuat media.
14.	<i>Laminar airflow</i>	Nuaire NU-126-400E	Tempat kegiatan penelitian.
15.	Mikropipet	1 unit	Alat pemindah larutan dalam skala kecil.

Tabel 2. Alat-alat yang digunakan (lanjutan)

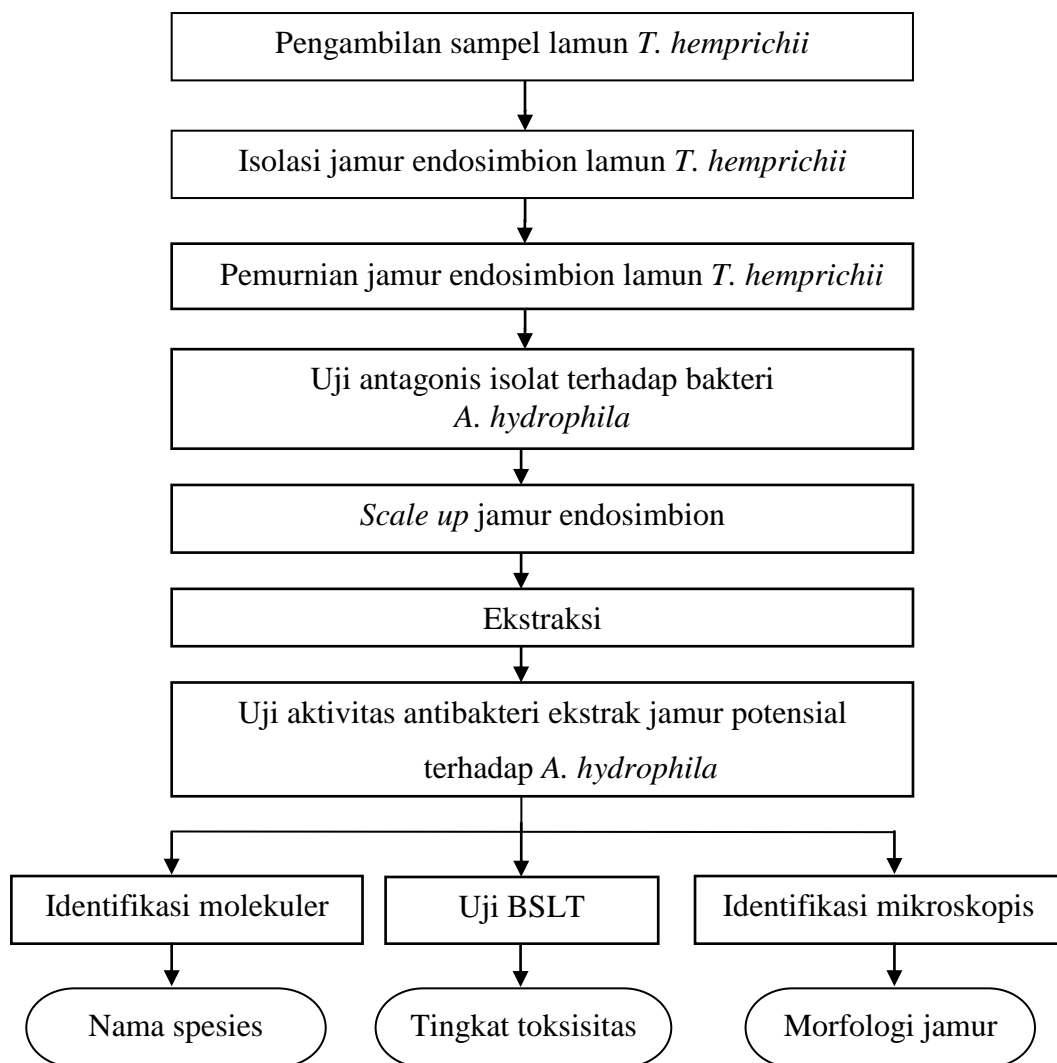
No	Alat	Keterangan	Fungsi
16.	Pipet tetes	1 unit	Alat pemindah larutan.
17.	Pisau	1 unit	Alat pemotong sampel.
18.	Pinset	1 unit	Alat penjepit.
19.	PCR <i>tube</i> dan mesin PCR		Alat kerja PCR.
20.	Seperangkat alat elektroforesis dan UV <i>transluminator</i>		Alat kerja elektroforesis.
21.	<i>Spreader</i>	1 unit	Alat penyebar mikroba kultur.
22.	Tabung reaksi	15 mL	Wadah media miring atau cair.
23.	Timbangan digital	1 unit	Alat penimbang media atau sampel.
24.	Tip, spatula, vortex, <i>sentrifuge</i> , <i>mortar pistil</i> , <i>shaker</i>	1 unit	Alat ekstraksi DNA.

Tabel 3. Bahan yang digunakan

No	Bahan	Keterangan	Fungsi
1.	Air laut steril	1.000 mL	Pelarut media laut.
2.	Akuades	1.000 mL	Pelarut media tawar.
3.	Alkohol 70%	1.000 mL	Disinfektan, sterilisasi alat dan diri.
4.	<i>Artemia salina</i>	40 Larva	Hewan uji toksisitas.
5.	<i>A. hydrophila</i>	-	Bakteri patogen.
6.	Kloramfenikol 1%	-	Zat anti kontaminasi bakteri pada media kultur jamur.
7.	ddH <sub>2</sub> O, PCR <i>master mix</i> , primer ITS1 dan ITS4, dan <i>template</i> DNA		Bahan kerja PCR.
8.	<i>Gel agarose</i> , <i>buffer</i> TAE, EtBr, DNA <i>loading dye</i> , dan 1 kb DNA <i>ladder</i>		Bahan running elektroforesis.
9.	<i>Malt extract agar</i> (MEA)	200 mL	Media tumbuh jamur potensial.
10.	<i>Malt extract broth</i> (MEB)	250 mL	Media tumbuh jamur di media cair.
11.	Metanol 70%	1.000 mL	Bahan pelarut ekstraksi.
12.	<i>Nutrient broth</i> (NB)	250 mL	Media tumbuh bakteri patogen uji.
13.	<i>Nystatin</i> 100.000 IU	1%	Zat anti kontaminasi jamur pada media kultur bakteri patogen.
14.	Tris, NaCl, EDTA, SDS, akuades, proteinase K, fenol, kloroform, isoamilalkohol, etanol PA, NaAc ( <i>buffer</i> ), etanol 70% dan ddH <sub>2</sub> O steril		Bahan ekstraksi DNA.

### 3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan menggunakan metode pendekatan eksploratif eksperimental yang merupakan penelitian menguji suatu ide atau prosedur untuk menentukan apakah memengaruhi hasil atau variabel terikat. Diagram alir metode penelitian dalam dilihat pada Gambar 4. Masing-masing tahapan dijelaskan pada tiap subbabnya.



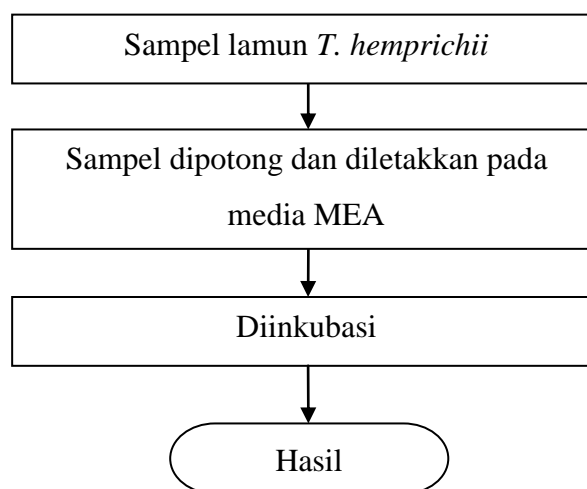
Gambar 4. Diagram alir metode penelitian

### 3.3.1 Pengambilan Sampel Lamun

Sampel lamun diambil dari Pantai Ketapang dengan cara memotong bagian akar lamun *T. hemprichii* menggunakan pisau. Akar lamun kemudian dibersihkan bebas sedimennya dengan menggunakan air laut hingga tidak ada lumpur yang tersisa di akar lamun. Sampel kemudian disimpan dalam plastik *zip* dan diberi label. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam *collbox* kemudian dibawa ke Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

### 3.3.2 Isolasi Jamur Endosimbion Lamun *T. hemprichii*

Isolasi merupakan suatu proses yang bertujuan untuk menumbuhkan jamur yang berasal dari sampel pada media. Media yang digunakan pada proses ini yaitu MEA atau *malt extract agar*. Prosedur isolasi sampel lamun *T. hemprichii* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Prosedur isolasi sampel lamun *T. hemprichii*.

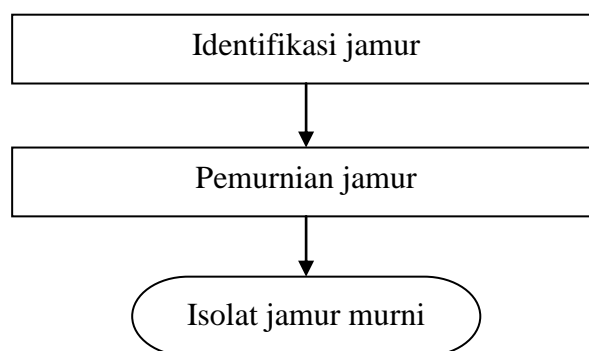
Sampel lamun dikeluarkan dari dalam *collbox* kemudian dilakukan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 30 detik sebanyak 2 kali ulangan. Perendaman bertujuan untuk membersihkan sampel lamun dari mikroba yang berasal dari permukaan sampel. Jamur endosimbion lamun diisolasi menggunakan metode yang dilakukan Pakaya *et al.* (2022). Bagian akar, batang, dan daun pada sampel lamun yang masih segar dipotong dan disayat menggunakan pisau dan diambil bagian



dalamnya. Bagian dalam tersebut diletakkan ke dalam media MEA (*malt extract agar*). Media cawan ditutup rapat menggunakan plastik *wrap* dan diinkubasi selama 3-4 hari.

### 3.3.3 Pemurnian Jamur Endosimbion Lamun *T. hemprichii*

Setelah isolat jamur diamati dan diberi kode isolat, masing-masing jamur dimurnikan ke dalam media tabung miring (MEA) yang bertujuan agar jamur yang tumbuh berasal dari 1 koloni saja. Prosedur pemurnian jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* dapat dilihat pada Gambar 6.



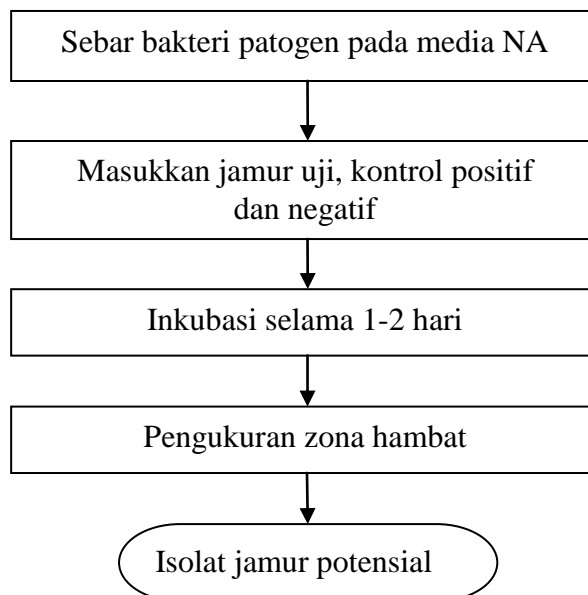
Gambar 6. Prosedur pemurnian jamur

Pemurnian dilakukan dengan memindahkan jamur menggunakan jarum ose ke dalam media miring (Bykowski dan Stevenson, 2020). Jamur yang telah dimurnikan kemudian diinkubasi kembali selama 3-7 hari. Pemilihan jamur yang dimurnikan didasarkan atas perbedaan morfologi yang tampak yaitu warna miselium, bentuk dan tekstur (Hidayat, 2017), sehingga dari hasil pemurnian diharapkan tidak ada jamur dengan morfologi yang sama.

### 3.3.4 Uji Antagonis terhadap Bakteri Patogen *A. hydrophila*

Uji antagonis terhadap bakteri patogen menggunakan metode *dual culture* yang dimodifikasi mengacu pada Ainy (2015). Setelah isolat jamur yang telah dimurnikan tumbuh, tiap-tiap jamur yang berbeda kemudian dikultur ke dalam media cawan (MEA) dan diinkubasi selama 3-7 hari. Setelah isolat jamur tumbuh, media cawan NA untuk uji antagonis dipersiapkan. Selain itu media NB juga disiapkan sebagai media kultur bakteri patogen. Media NB yang telah dibuat kemudian digunakan untuk mengkultur bakteri patogen *A. hydrophila* dengan cara diambil

bakterinya, kemudian dimasukkan ke dalam tabung menggunakan jarum ose, setelah itu diinkubasi selama 24 jam. Prosedur uji antagonis jamur endosimbion dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Prosedur uji antagonis

Bakteri patogen dimasukkan ke dalam media NA menggunakan mikropipet sebanyak 100  $\mu$ L dan diratakan dengan *spreader*, ditunggu 5-10 menit hingga bakteri patogen setengah kering. Isolat jamur kemudian diletakkan di atas media dengan cara memotong jamur dengan ukuran beberapa milimeter. 1 cawan media uji antagonis dapat diletakkan setidaknya 5 isolat jamur dengan kontrol positif dan negatif. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 1% dan kontrol negatif yaitu media MEA untuk membuktikan bahwa media tidak memiliki pengaruh antibiotik terhadap bakteri patogen *A. hydrophila*. Inkubasi dilakukan selama 1-2 hari untuk melihat zona hambat yang terbentuk. Kategori zona hambat dapat dilihat pada Tabel 4.

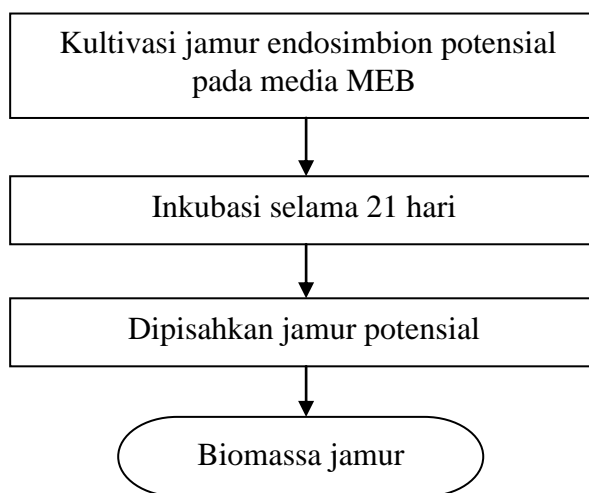
Tabel 4. Kategori zona hambat

No.	Kemampuan penghambat	Diameter zona hambat (mm)
1	Sangat kuat	$\geq 20$
2	Kuat	10-20
3	Sedang	5-10
4	Lemah	$< 5$

Sumber : Fitri (2010)

### 3.3.5 *Scale up* Jamur Endosimbion

*Scale up* bertujuan untuk memperbanyak isolat jamur endosimbion yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *A. hydrophila*. Prosedur kultivasi dapat dilihat pada Gambar 8.

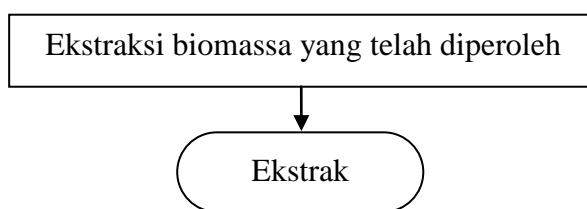


Gambar 8. Prosedur kultivasi jamur endosimbion potensial

Proses *scale up* dilakukan dengan cara kultivasi menggunakan media MEB sebanyak 100 mL di dalam botol kaca berukuran 500 mL. Kultivasi dilakukan selama 21 hari, karena pada waktu tersebut jamur berada pada fase stasioner yaitu fase penumpukan hasil metabolit sekunder (Rendowaty *et al.*, 2017). Jamur endosimbion yang telah dikultivasi, kemudian disaring untuk memisahkan antara miselium dengan media yang digunakan.

### 3.3.6 Ekstraksi

Biomassa jamur potensial yang sudah dikultivasi kemudian diekstrak menggunakan metanol dengan metode maserasi (perendaman) berdasarkan Yati *et al.* (2018). Pemilihan metanol sebagai pelarut karena sifatnya yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, memiliki toksisitas rendah dan bersifat polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (Rowe, 2009). Prosedur ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 9.

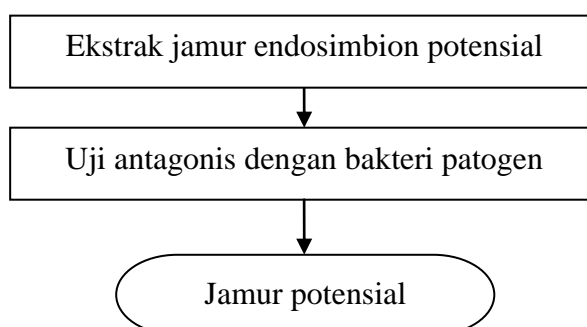


Gambar 9. Prosedur ekstraksi jamur endosimbion potensial

Isolat jamur dicacah hingga halus kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel dan ditambahkan metanol 70% dengan perbandingan 1/10 (w/v). Hasil ekstrak kemudian dipisahkan dari pelarut menggunakan kertas saring. Proses maserasi dilakukan secara berulang. Hasil ekstrak kemudian diuapkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kasar.

### 3.3.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Potensial terhadap *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diremajakan dengan menggunakan media NB, bakteri diambil sebanyak satu jarum ose dan kemudian diletakkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media NB, kemudian diinkubasi di atas *shaker* selama 9 jam. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode Kirby Bauer atau difusi kertas cakram, yaitu dengan menggunakan kertas cakram sebagai alat uji (Hudzicki, 2009). Prosedur uji aktivitas antibakteri ekstrak dapat dilihat pada Gambar 10.



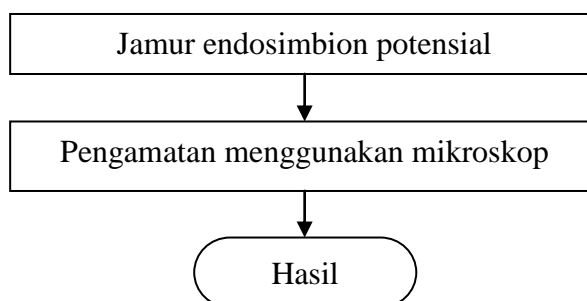
Gambar 10. Prosedur uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur endosimbion potensial

Bakteri *A. hydrophila* yang telah diremajakan disebarakan pada media cawan NA menggunakan *spreader* dan didiamkan selama 15 menit. Larutan stok 10.000 ppm dibuat dengan melarutkan 1 g ekstrak ke dalam 100 mL akuades, kemudian dila-

kukan pengenceran hingga didapatkan konsentrasi larutan sebesar 10, 100, 1.000, dan 5.000 ppm (Ningdyah *et al.*, 2015). Setelah itu, masing-masing konsentrasi larutan diambil menggunakan mikropipet sebanyak 20  $\mu$ L dan ditetesi pada kertas cakram. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 1% yang ditetesi pada kertas cakram serta kontrol negatif menggunakan media NA. Kertas cakram yang sudah ditetesi isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan pada cawan petri yang berisi bakteri *A. hydrophila*, kemudian diinkubasi selama 1-2 hari dan diamati zona hambat yang terbentuk (Pratiwi, 2015). Zona hambat kemudian diukur menggunakan jangka sorong dan dicatat.

### 3.3.8 Identifikasi Mikroskopis

Jamur endosimbion potensial diidentifikasi secara mikroskopis dengan mengamati bentuk, warna, miselium, dan spora menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan data pada buku acuan Pitt dan Hocking (2009). Prosedur identifikasi mikroskopis jamur endosimbion potensial dapat dilihat pada Gambar 11.

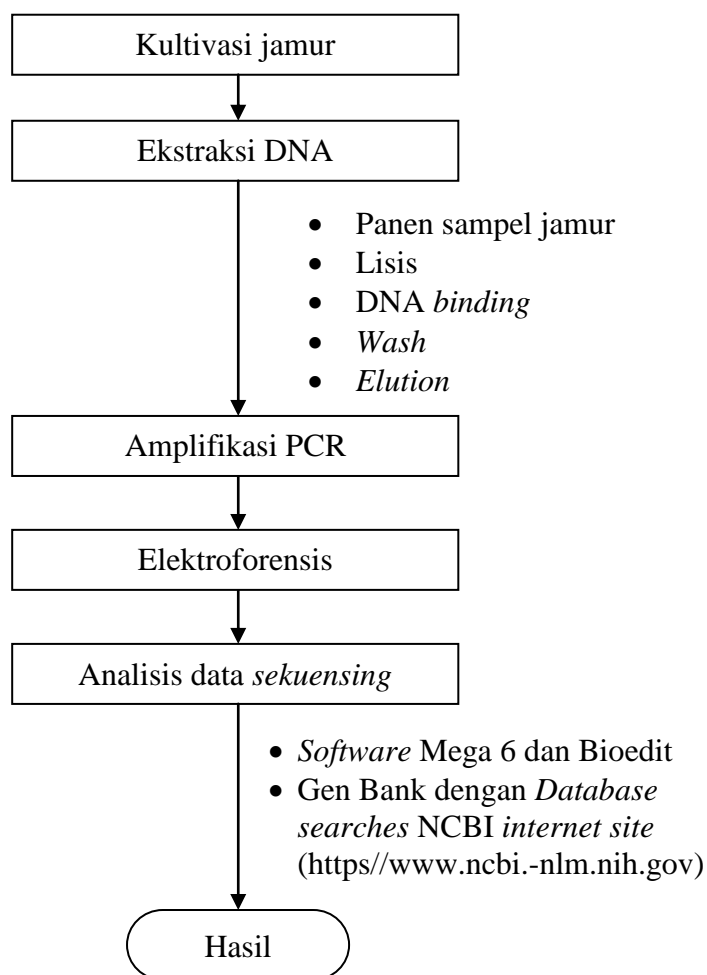


Gambar 11. Prosedur identifikasi mikroskopis jamur endosimbion potensial

Jamur endosimbion ditumbuhkan pada media MEA dan diinkubasi selama 3 hari. Setelah jamur endosimbion tumbuh, disiapkan kaca preparat dan disterilisasi menggunakan alkohol. Kaca preparat ditetaskan dengan KOH (kalium hidroksida) 3%. Setelah itu jamur endosimbion digoreskan pada kaca preparat menggunakan jarum ose dan ditutup menggunakan *cover glass*. Jamur kemudian diamati menggunakan mikroskop dan didokumentasikan.

### 3.3.9 Identifikasi Molekuler

Identifikasi isolat jamur endosimbion dari lamun *T. hemprichii* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *A. hydrophila*, dilakukan secara molekuler dengan tahapan ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, elektroforesis, dan *sekuensing*. Identifikasi jamur dideterminasi dengan mengamati daerah ITS dengan menggunakan primer ITS1 dan ITS4. Selanjutnya analisis *cluster* pada sekuens tersebut dilakukan dengan program BLAST (*basic local alignment tool*) dari NCBI (National Center for Biotechnology Information). Basa nukleotida dianalisis secara lengkap di PT. Genetika Science Indonesia. Adapun prosedur identifikasi molekuler dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Prosedur identifikasi molekuler

### 3.3.9.1 Ekstraksi DNA jamur

Jamur yang berumur 2-3 minggu dipanen dengan cara ditambahkan 10 mL air steril pada cawan yang berisi biakan jamur. Jamur yang sudah dipisahkan dari media agar kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah proses sentrifus selesai ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500  $\mu$ L pada tabung. Jamur kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah sentrifus selesai supernatan dibuang dan pelet yang tersisa di tabung ditambahkan larutan *buffer* sebanyak 1.000  $\mu$ L.

Pelet yang telah ditambahkan *buffer* dihomogenkan dengan *rotary mixer* hingga pelet tersuspensi merata dalam larutan, lalu dimasukkan ke dalam mortar. Mortar yang berisi pelet dimasukkan ke dalam kulkas selama 24 jam untuk diinkubasi. Setelah masa inkubasi selesai, pelet ditumbuk selama 15 menit, lalu dipindahkan ke dalam *tube* 1,5 mL sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400  $\mu$ L dan dipanaskan dalam *water bath* pada suhu 65° C selama 1 jam.

Setelah proses *water bath* selesai, *phenol*, *chloroform*, *isoamyl alcohol* (PCI) ditambahkan sebanyak 500  $\mu$ L, dihomogenkan, kemudian disentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus pelet terbagi menjadi 2 larutan, larutan atas yang bening diambil sebanyak 600  $\mu$ L, lalu dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang baru. *Chloroform*, *isoamyl alcohol* (CI) ditambahkan dengan perbandingan yang sama dengan volume hasil larutan sebelumnya (1:1), disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit.

Setelah sentrifus selesai, larutan yang berada di bagian atas diambil sebanyak 400  $\mu$ L dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 mL baru. Tabung kemudian ditambahkan isopropanol dingin dengan volume yang sama, larutan kemudian dihomogenkan. Larutan yang telah homogen diinkubasi pada suhu -20° C selama 20 menit. Setelah inkubasi selesai, larutan disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah proses sentrifus selesai, supernatan dibuang untuk mendapatkan peletnya. Pelet tersebut ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500  $\mu$ L, dan disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit, kemudian

supernatan yang tersisa dibuang dan pelet yang didapatkan dikeringanginkan selama 1-2 hari.

### **3.3.9.2 Amplifikasi PCR (*polimerase chain reaction*)**

Amplifikasi PCR (*polymerase chain reaction*) terdiri atas 3 tahap, yaitu denaturasi (suhu 95°C selama 30 detik), *annealing* (suhu 55°C selama 30 detik), dan ekstensi (suhu 72 °C selama 1 menit). Menurut Hiroaki (2009) PCR dilakukan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel dan akuades sebagai kontrol negatif. Kemudian “PCR mix” yang terdiri atas enzim, MgCl<sub>2</sub>, fD1 (*forward*), rP2 (*reverse*), dan *template* DNA dimasukkan ke dalam tabung PCR. Denaturasi dilakukan pada 2 tahap, tahap pertama pada suhu 95°C selama 15 menit, selanjutnya tahap kedua pada suhu 95°C selama 15 detik, *annealing* dilakukan pada suhu 55°C selama 15 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 30 siklus, kemudian ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit dan 12°C kurang lebih 30 menit.

### **3.3.9.3 Elektroforesis**

Elektroforesis berdasarkan yang telah 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 didokumentasikan menggunakan kamera.

### **3.3.9.4 Sekuensing**

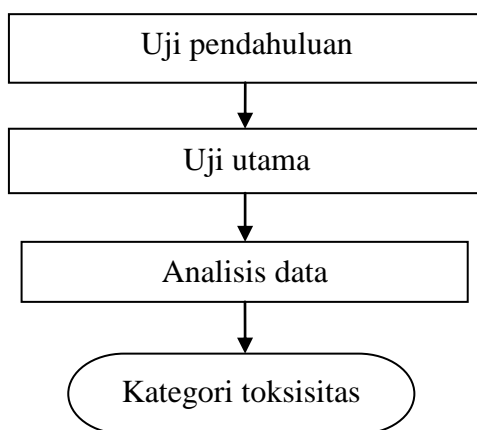
Ekstrak DNA kemudian dipurifikasi mengikuti prosedur PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta kemudian dilanjutkan dengan tahap *sekuensing* menggunakan *primer* ITS1 dan ITS4 mengikuti prosedur First BASE, Singapura. Sekuens DNA yang diperoleh dibandingkan dengan *database* GenBank di National Center 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 spesies jika lebih dari



95% sesuai dengan sekuens *database*. Kesamaan sekuen antara sampel isolat dengan *database* GenBank dilihat menggunakan Multiple Sequences Alignment-program Clustal Omega di European Bioinformatics Institute ([www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)) hingga membuat pohon filogenetik sederhana.

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

Tahapan awal yang dilakukan pada *brine shrimp lethality test* adalah menetasakan kista *Artemia salina* menggunakan toples kaca dengan cara merendam 1 g kista artemia ke dalam air laut sebanyak 100 mL, diberi penerangan serta aerasi selama 24-48 jam. Setelah 48 jam kista *Artemia salina* berubah menjadi larva, larva tersebut yang kemudian digunakan sebagai hewan uji. Prosedur tahap uji BSLT dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Prosedur uji BSLT

Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diberi perlakuan. Perlakuan yang digunakan pada uji pendahuluan, yaitu konsentrasi larutan sebesar 100; 1.000; 2.500; 3.500; 6.500 dan 10.000 ppm (Ningdyah *et al.*, 2015). Konsentrasi larutan dibuat dengan menambahkan ekstrak jamur lamun *T. hemprichii* dan air laut sesuai dengan konsentrasi yang digunakan.

Uji utama menggunakan konsentrasi yang ditentukan berdasarkan ambang batas atas dan ambang batas bawah yang telah diidentifikasi pada uji pendahuluan. Penentuan konsentrasi uji dilakukan menggunakan persamaan quantal responses (Persamaan 1) (Finney, 1971).

$$\text{Log} \frac{N}{n} = k - \log \frac{a}{n} \quad (1)$$

keterangan :

N : Konsentrasi ambang atas

n : Konsentrasi ambang bawah

a : Konsentrasi pertama yang dicobakan

K : Jumlah konsentrasi yang diuji

Untuk mencari konsentrasi yang lainnya menggunakan Persamaan (2-5) :

$$\frac{b}{a} \text{ maka } b = \frac{a^2}{n} \quad (2)$$

$$\frac{c}{b} \text{ maka } c = \frac{b^2}{a} \quad (3)$$

$$\frac{d}{c} \text{ maka } d = \frac{c^2}{b} \quad (4)$$

$$\frac{e}{d} \text{ maka } e = \frac{d^2}{c} \quad (5)$$

Hasil uji pendahuluan didapatkan nilai ambang batas atas 3.500 ppm dan ambang batas bawah 100 ppm. Berdasarkan nilai ambang batas atas dan bawah dilakukan perhitungan nilai interval konsentrasi dan didapat konsentrasi untuk uji utama yaitu sebesar 203,7; 414,9; 845; 1.720,9; 3.504,7 ppm. Selanjutnya pengujian efek toksik dihitung dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub>. LC<sub>50</sub> (*lethal concentration*) yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% dari organisme uji. Untuk mendapatkan nilai LC<sub>50</sub>, terlebih dahulu menghitung mortalitas dengan menggunakan Persamaan (6)

$$\% \text{ Mortalitas} : \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \quad (6)$$

Setelah mengetahui persentase mortalitas larva *Artemia*, kemudian dihitung nilai probit pada Persamaan (7)

$$Y = a + bX \quad (7)$$

keterangan:

Y : Nilai probit

a : Konsentrasi regresi

b : *Slope*/kemiringan regresi

X : Logaritma 10 konsentrasi uji

LC<sub>50</sub> – 24 jam dihitung dengan mengambil nilai antilog dari M. M adalah logaritma dari konsentrasi zat toksik pada Y = 5, yang merupakan nilai probit 50% dari hewan uji. Nilai probit digunakan dalam pembentukan persamaan regresi menurut Hubert (1979) dalam Yunita *et al.* (2009) dengan Persamaan (8).

$$M = \frac{5-a}{b} \quad (8)$$

Suatu zat dikategorikan sebagai toksik bila nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1.000 µg/mL (Juniarti *et al.*, 2009). Selanjutnya Meyer (1982) mengklasifikasikan tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan LC<sub>50</sub>, yaitu kategori sangat tinggi/*highly toxic* apabila mampu membunuh 50% larva artemia pada konsentrasi 1-10 µg/mL, sedang/*medium toxic* pada konsentrasi 10-100 µg/mL, dan rendah/*low toxic* pada konsentrasi 100-1.000 µg/mL.

## V. PENUTUP

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapat hasil berupa:

1. Didapat 21 isolat jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* dengan morfologi yang berbeda.
2. Isolat jamur endosimbion lamun *T. hemprichii* FTB 1.2 memiliki aktivitas anti-bakteri terhadap bakteri *A. hydrophila* sebesar 5,78 mm pada konsentrasi 10.000 ppm dan 5,02 mm pada konsentrasi 5.000 ppm.
3. Hasil identifikasi molekuler jamur endosimbion potensial yang berasal dari lamun *T. hemprichii* memiliki kemiripan sebesar 98% dengan *Schizophyllum commune* dengan *accession number* KM985685.1:1-394.

### 5.2 Saran

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

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. ITB Press. Bandung. 110 Hal.
- 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. *Jurnal Biologi*, 12(1) : 892-897.
- Amiarsih, D., Yulianingsih, dan Sabari, S.D. 2006. Pengaruh jenis dan perbandingan pelarut terhadap hasil ekstraksi minyak atsiri mawar. *Jurnal Hortikultura*, 16(4) : 356-359.
- Anderson, J. E. 1991. A blind comparison of simple bench top bioassay and human tumor cell cytotoxicities as antitumor predcreens, natural product chemistry. *Phytochemical Analysis*, 2(3) : 107-111.
- Angka, S. L. 2001. Studi karakteristik dan patologi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Makalah Falsafah Sains, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 12 Hal.
- Aoki, T. 1999. Motile aeromonas (*Aeromonas hydrophila*). *Journal Laboratory of Genetic and Biochemistry*, 3(11) : 427-435.
- Assuncao, M. M. C., Cavalcanti, M. D. Q., dan Menezes, M. 2010. *Schizophyllum commune* isolated from banana leaves (*Musa* spp.), as endophytic fungi, in Pernambuco. *Brazil Agrotrópica*, 22(1) : 67-70.
- 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) : 1-7.
- Austin, B., dan Austin, D.A. 2007. *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*. Springer. Dordrecht. 552 Hal.
- Avinash, S., Rajvir, K., Jasleen, K., Saweta, G., Rajbir, B., dan Amarjeet, K. 2021. An endophytic *Schizophyllum commune* Fr. exhibits in-vitro and in-vivo antidiabetic activity in streptozotocin induced diabetic rats. *AMB Express*, 11(58) : 1-11.

- Azkab, M. H. 2009. *Lamun (seagrass): Pedoman Inventarisasi Lamun*. Pusat Penelitian Oseanografi. Jakarta. 16 Hal.
- Baehaki, A., Supriadi, A., dan Pratama, M. C. 2016. Antibacterial activity of methanol extract from seagrass of *Halodule uninervis* in the coastal of Lampung. *Journal of Pharmaceutical*, 8(4) : 77–79.
- Balaouri, M., Sadiki, M., dan Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2) : 71-79.
- Bara, R., Amal, H., Wray, V., Lin, W., Proksch, P., dan Debbab, A. 2013. Talaromins A and B, new cyclic peptides from the endophytic fungus *Talaromyces worimannii*. *Tetrahedron Letters*, 54(13) : 1686-1689.
- Bengen, D. G. 2003. *Struktur dan Dinamika Ekosistem Pesisir dan Laut. Analisis Ekosistem Wilayah Pesisir dan Lautan*, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 39 Hal.
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., dan Piddock, L. J. V. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1) : 42-51.
- Brahmana, M. E., dan Purnama, A. A. 2018. Bioaktivitas antibakteri lamun *T. hemprichii* dan *Enhalus acoroides*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 6(1) : 45-50.
- Bykowski., Tomasz., dan Brian, S. 2020. Aseptic technique. *Current Protocols in Microbiology*, 4(1) : 1-11.
- Cahya, N. R. D., Abdulkadir, W. S., dan Hasan, H. 2022. Uji toksisitas ekstrak etanol kulit terong ungu (*Solanum melongena* L.) menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1) : 202-210.
- Cahyadi, R. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap larva *Artemua salina* Leach dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). *Universitas Diponegoro Repository*, 5(1) : 1-8.
- Campbel, N. A, Reece, J. B., dan Mitchell, L. G. 2002. *Biologi Edisi ke-5*. Erlangga. Jakarta. 436 Hal.
- Clores, M., dan Carandang, J. S. 2013. Chlorophyll content, productivities and biomass allocations of seagrasses in Talim Bay, Lian, Batangas, Philippines. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Enviromental Sciences*, 3(3) : 247-256.

- Chareprasert, S., Piapukiew, J., Thienhirun, S., Whalle, y A. J., dan Sihanonth, P. 2006. Endophytic fungi of teak leaves *Tectona grandis* L. and rain tree leaves *Samanea saman* Merr. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 22(1) : 481-486.
- Costa, A. B., dan Cyrino, J. E. 2006. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Scientia Agricola*, 63(3) : 281-284.
- Den Hartog C. 1970. *The Seagrasses of The World*. North Holland Publishing Co. Amsterdam. 275 Hal.
- Den Hartog, C., dan J. Kuo. 2006. *Taxonomy and Biogeography of Seagrass. in Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Springer. Netherlands. 24 Hal.
- Dewi, C. S. U. 2012. Komponen fitokimia dan toksisitas senyawa bioaktif dari lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*, 3(2) : 23-27.
- Dhewani, N., Eko, U., Prayudha, B., Happy, I., Yulia, M., Rahmat., Anggraini, K., Rahmawati, S., dan Suyarso. 2018 *Status Padang Lamun Indonesia Ver. 02*. Pusat Penelitian Oseanografi LIPI. Jakarta. 39 Hal.
- Dinas Kelautan dan Perikanan. 2022. Penyakit Aeromonas pada Ikan. Informasi Kelautan dan Perikanan Kulon Progo. Kulon Progo.
- Elfina, D., Martina, A., dan Mustika, R. 2014. Isolasi dan karakteristik fungi endofit dari kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L) sebagai Antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau*, 1(1) : 1-10.
- El-Hady, H.H.A., S.M. Daboora, dan A.E. Ghoniemy. 2007. Nutritive and antimicrobial profiles of some seagrass from Bardawil Lake. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 33(3) : 103-110.
- Fatchiyah, Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekular, Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta. 191 Hal.
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*. Cambridge University Press. Cambridge. 333 Hal.
- Firnanda, R., Sugito., Fakhurrizi., dan D.V.S. Ambarwati. 2013. Isolasi *A. hydrophila* pada sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi tepung daun jaloh (*Salix tetrasperma* Robx). *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(1) : 22-24.
- Fitri, L. 2010. Kemampuan daya hambat beberapa macam sabun antiseptik terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Edukasi*, 2(2) : 1-7.



- Garcias-Bonet, N., Arrieta, J. M., Santana, C. N., Duarte, C. M., dan Marba, N. 2012. Endophytic bacterial community of a mediterranean marine angiosperm (*Posidonia oceanica*). *Frontiers in Microbiology*, 3 (article 342):342.
- Gupta, A., Naraniwal, M., dan Kothari, V. 2012. Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1(1) : 8-26.
- Guzmán, G. 2008. Diversity and use of traditional mexican medicinal fungi. A review. *International Journal Medicinal Mushrooms*, 10(3) : 209-217.
- Gustavina, N. L. G. W. B., Dharma, I. G. B. S., dan Faiqoh, E. 2018. Identifikasi kandungan senyawa fitokimia pada daun, akar lamun Pantai Samuh Bali. *Journal of Marine Aquatic Sciences*, 4(2) : 271-277.
- Hamburger, M., dan Hostettmann, K., 1991. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30(12) : 3864-3874.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., dan Rakesh, D.D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. ICS UNIDO. Italy. 260 Hal.
- Hastuty, A. R., Mairani., dan Rosada, k. 2020. Antibacterial and anti-biofilm activities of culture filtrates from *Schizophyllum commune*, *Coniothyrium* sp. and *Fusarium* sp. *Makara Journal of Science*, 24(2) : 86-94.
- Hidayat I. 2017. Isolasi spora tunggal. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 1(1) : 45-46.
- Holt, T. J., Rees, E. I., Hawkins, S. J., dan Seed, R. 1998. *Biogenic Reefs*. An Overview of Dynamic and Sensitivity Characteristics for Conservation Management of Marine SACs. Scottish Association for Marine Science. United Kingdom. 170 Hal.
- Hua, Q. S., Zhang, S., Qian, P. Y., dan Wang, B. G. 2008. Antifeedant, antibacterial, and antilarval compounds from The South China seagrass *Enhalus acoroides*. *Botanica Marina*, 51(5) : 441-447.
- Hudzicki, J. 2009. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology. Washington. 23 Hal.
- Hurtado., McCormick, V., Kahlke, T., Petrou, K., Jeffries, T., Ralph, P.J., Seymour, J.R., dan Hill, R.T. 2019. Regional and micro environmental scale characterization of the *Zostera muelleri* seagrass microbiome. *Front Microbiol*, 10(1) : 1-22.
- Huys, G., P. Kampfer., M. J. Albert., I. Khun., R. Denys., dan J. Swings. 2002. A *hydrophila* subsp dhakensis subsp nov isolated from children with diaerhoea in Bangladesh. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*, 52(3) : 705-712.

- Irawan, B. 2010. Jenis-jenis lamun (*seagrass*) di Pantai Pangandaran Jawa Barat. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya Akuatik*. Purwokerto: 26 Juni 2010. Hal 38-40.
- Jayakumar, S., dan Jhancy, M. 2010. Evaluation of antioxodant potential and antibacterial activity of *Calotropis gigantean* and *Vinca rosea* using in vitro model. *Indian Journal of Science and Technology*, 3(6) : 720-724.
- Jamili, M.A., Hidayat, M.N., dan Hifizah, M. (2014). Uji daya hambat ramuan herbal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Pendidikan*, 1(2) : 227-239.
- Jiraporn, A., Rukachaisirikul, V., Sukpondma, Y.,Phongpaichit, S., Supaphon, O., dan Sakayaroj, J. 2014. A  $\beta$ -resorcyclic macrolide from the seagrass derived fungus *Fusarium* sp. PSU-ES73. *Archives of Pharmacal Research*, 34(10) : 1633-1637.
- Joel, E.L., dan Bhimba, B.V. 2013. A secondary metabolite with antibacterial activity produced by mangrove foliar fungus *Schizophyllum commune*. *International Journal Chemical Environmental Biological Science*, 1(1): 165-168.
- Juniarti., D. Osmeli., dan Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*brine shrimp lethality test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl) dari daun saga (*Abrus precatorius* l.) *Makara Sains*, 13(1) : 50-54.
- Kamalebo, H. M., Malale, H. N. S. W., Ndabaga, C. M., Degreef, J., dan De Kesel, A. 2018. Uses and importance of wild fungi: traditional knowledge from the tshopo province in the democratic Republic of The Congo. *Journal Ethnobiol Ethnomed*, 14(1) : 1-12.
- Kannan, R. R. R., R. Arumugam., dan P. Anantharaman. 2010. Antibacterial potential of three seagrasses against human pathogen. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(11) : 890-893.
- Kannan, R. R. R., R. Arumugam., dan P. Anantharaman. 2010. Thin layer chromatography analysis of antioxidant constituents from seagrass of gulf of mannar biosphere reserve. *International Journal of ChemTech Research CODEN*, 2(3) : 1526-1530.
- Kanti, A., dan Muhammad, I. 2005. Isolasi dan identifikasi kapang pada relung rhizosphere tanaman di kawasan Cagar Alam Gunung Mutis, Timor, NTT. *Journal of Biological Diversity*, 7(3) : 216-220.
- Kawaroe, M. 2009. Perspektif lamun sebagai blue carbon sink di laut. *Prosiding Lokakarya Nasional I Pengelolaan Ekosistem Lamun*. Jakarta: 18 November 2009. Hal 45-51.
- KEPMEN LH. 2004. *Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 54 Tahun 2004*. Kementrian Lingkungan Hidup.

- Kew Science. 2017. Plants of the World Online, Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.
- Khalid, S., Alharbi, N., Kadaikunnan, S., Khaled, J., Rajivgandhi, G., Ramachandran, G., Chenthis, C., Murugan, M., Alanzi, K., dan Manoharan, N. 2021. Antibacterial effect of marine seagrass mediated endophytic actinomycetes against *K. pneumoniae*. *Journal of King Saud University-Science*, 33(6) : 1-7.
- Klaus, A., Kozarski, M., Niksic, M., Jakovljevic, D., Todorovic, N., dan Van, G. L. J. 2011. Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharides extracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 44(10) : 2005-2011.
- Klug, W. S., dan Cummings, R. 1994. *Concepts of Genetics*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. Englewood cliffs. 761 Hal.
- Kordi, M. G. 2011. *Ekosistem Padang Lamun (Seagrass)*. Rineka Cipta. Jakarta. 191 Hal.
- Kurniawan, M. L. 2010. Analisis kecenderungan persebaran meiofauna pada lamun yang dipengaruhi oleh variabel lingkungan. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. 10 Hal.
- Kusdawarti, G., Christy, G., dan Handijatno, D. 2019. Determination of aerolysin gene *A. hydrophila* by polymerase chain reaction (PCR) technique. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 236(1) : 012-097.
- Kusrinah., dan Kasiamdari, R. 2015. Morphological characteristics and kinship relationship of mushroom *Schizophyllum commune*. *Journal Nature Science and Mathematics Research*, 1(2) : 65-71.
- Larkum, A.W.D., R.J. Orth., dan C.M. Duarte. 2006. *Seagrasses Biology, Ecology and Conservation*. Springer. Netherland. 691 Hal.
- Lee, S. S., Chang, Y. S., dan Noraswati, M. N. R. 2009. Utilization of macrofungi by some indigenous communities for food and medicine in Peninsular Malaysia. *Forest Ecology Management*, 257(10) : 2062-2065.
- Liao, X., Yang, J., Zhou, Z., Wu, J., Yang, Q., Zong, S., dan Zhang, X. 2023. Diversity and antimicrobial activity of intestinal fungi from three species of coral reef fish. *Journal of Fungi*, 9(613) : 1-14.
- Listari, Y. 2009. Efektifitas penggunaan metode pangujian antibiotik isolat *streptomyces* dari rizosfer familia *Poaceae* terhadap *Esthericia coli*. *Tesis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. 12 Hal.
- Lukistyowati, I., dan Kurniasih, K. 2012. Kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus Carpio* L) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium Sativum*) dan di Infeksi *A. hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 16(02) : 145-160.

- Mandeep, K., Pooja, C., Sanehdeep, K., Amarjeet, K., Rajvir, K., Arun, K. Y., dan Ramandeep, Kaur. 2018. *Schizophyllum commune* induced genotoxic and cytotoxic effects in *Spodoptera litura*. *Scientific Report*, 8(1) : 4693-4707.
- Manik. V. T, Hidayat., dan T. Kusumawaty. D. 2014. Identifikasi dan filogenetika bakteri *Aeromonas* spp. isolat air kolam beberapa kota berdasarkan pa-da sikuen gen 16S rRNA. Program Studi Biologi Jurusan Pendidikan Biologi UPI. Bandung. *Formica Online*, 1(1) : 10-19.
- Mardigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., dan Clark, D.P. 2012. *Brock Biology of Microorganisms Thirteenth Edition*. Pearson Education Inc Publishing as Benjamin Cummings. SanFransisco. 1060 Hal.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., dan McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp : a convenient general bioassay for active plant constituent. *Plant Medica*, 45(5) : 31-34.
- Montotalu, G., Sumilat, D., Rumampuk, N., Rumengan, I., Lintang, R., dan Kreckhoff, R. 2021. Isolasi jamur simbion ascidia *Schizophyllum commune* yang memiliki aktivitas antibakteri. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 9(1) : 22-29.
- Mulawarmanti, D. 2019. Biota laut sebagai alternatif bahan obat (pemanfaatan teripang emas sebagai terapi ajuvan di kedokteran gigi). *Prosiding Seminar Nasional Kelautan XIV*. Surabaya: 11 Juli 2019. Hal 1-10.
- Nair, D. N., dan Padmavathy, S. 2014. Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *Scientific world Journal*, 2014(2) : 1-1.
- Newmaster, A. F., K. J. Berg., S. Ragupathy., M. Palanisamy., K. Sambandan., dan S. G. Newmaster. 2011. Local knowledge and conservation of seagrass in the Tamil Nadu State of India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7(37) : 2-17.
- Ningdyah, A., Alimuddin, A., dan Jayuska, A. 2015. Uji toksisitas dengan metode BSLT (*brine shrimp letality test*) terhadap hasil fraksinasi ekstrak kulit buah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Khatulistiwa*, 4(1) : 75-83.
- Nontji, A. 2010. Pengelolaan padang lamun pembelajaran dari proyek trismades. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya Akuatik*. 1-19. Hal 912.
- Noverita, D. F., dan Sinaga, E. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4) : 171-176.
- Noviarini, W., dan Ermavitalini, D. 2015. Analisa kerusakan jaringan akar lamun *Thalassia hemprichii* yang terpapar logam berat kadmium (Cd). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2) : 71-72.

- Nugraha, A., Tri, A., dan Mursiti, S. 2017. Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2) : 91-96.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2) : 41-46.
- Nurhidayah, N., dan Masriany, M. 2014. Isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kasar batang nanas (*Ananas comosus*) berdasarkan variasi pH. *Biogenesis Jurnal Ilmiah*, 1(2) : 116-122.
- Ohm, R., de Jong, J., Lugones, L. G., Aerts, A., Kothe, E., Stajich, J., de Vries, dan R. P. 2010. Genome sequence of the model mushroom *Schizophyllum commune*. *Nature Biotechnology*, 28(9) : 957-963.
- Ooi, V. E.C dan Liu, F. 2000. Immunomodulation and anticancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Current Medicinal Chemistry*, 7(7) : 715-729.
- Padhiar, A., Nagadesi, P. K., Alber, S., dan Arya, A. 2009. Morphology, anatomy and cultural characters of two wood decaying fungi *Schizophyllum commune* and *Flavodon flavus*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 39(1) : 27-31.
- Pakaya, M. S., Uno, W. Z., Papeo, D. R. P., dan Moo, D. R. 2022. Isolasi dan karakteristik jamur endofit lamun (*Thalassia hemprichii*) dari kawasan Teluk Tomini. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(3) : 519-524.
- Patty, S. I., dan Rifai, H. 2013. Struktur komunitas padang lamun di perairan Pulau Mantehage, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Plarax*, 1(4) : 177-186.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi jilid 2*. UI Press. Jakarta. 443 Hal.
- Pitt, J.I. dan Hocking, A.D. 2009. *Fungi and Food Spoilage Third Edition*. Springer US. New York. 520 Hal.
- Pratiwi, T., Fathoni, A., Wulansari, D., Efendi, O., dan Agusta, A. 2017. Profil GC/MS dan evaluasi potensi ekstrak jamur endofit dari batang pakis tangkur (*Selliguea feei Bory*). *Prosiding Semnas Biodiversitas*. Juli 2017. 6(2) : 177-183.
- Pratiwi. 2015. Daya hambat ekstrak daun pepaya terhadap adhesi bakteri *Prphyromonas gingivalis* pada neutrofil. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2) : 194-197.
- Pratiwi, R. 2008. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus* mutans dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. *Majalah Kedokteran Gigi*, 38(2) : 64-67.

- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta. 237 Hal.
- Prihatini, I. 2014. Identifikasi jamur endosimbion daun jarum pinus radiata menggunakan metode ekstraksi DNA secara langsung. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 8(1) : 31-42.
- Qadri, M., Johri, S., Shah, B. A., Khajuria, A., Sidiq, T., Lattoo, S. K., Abdin, M. Z., dan Riyaz, Ul-Hassan. S. 2013. Identification and bioactive potential of endophytic fungi isolated from selected plants of the Western Himalayas. *Springerplus*, 2(1) : 2-8.
- Rafika, S., Apriadamayanti, P., dan Pratiwi, L. 2022. Efektivitas SNEDDS kombinasi fraksi etil asetat daun cengkodok (*Melasthoma malabathricum*) antibiotik terhadap bakteri hasil isolat dari pasien ulkus diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2) : 105-114.
- Rafika, S., Mutiara, M., dan Inarah, F. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences Research*, 4(3) : 143-154.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh ekstrak sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengatasi infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Aquasains*, 1(1) : 1-7.
- Raja-Kannaan, R. R., Arumugam, R., Thanngaradjou, T., dan Anantharaman, P. 2013. Phytochemical constituents, antioxidant properties and p-coymaric acid analysis in some seagrasses. *Food Research International*, 54(1) : 1229-1236.
- Rasyid, A. 2008. Biota laut sebagai sumber obat-obatan. *Oseana*, 33(1) : 11-18.
- Ravikumar, S., Thajuddin, N., Suganthi, S., Jacob, S., dan Vinodkumar. 2008. bioactive potential of seagrass bacteria against human bacterial pathogens. *Journal of Enviromental Biology*, 31(23) : 387-389.
- Rendowaty, A., Djamaan, A., dan Handayani, D. 2017. Waktu kultivasi optimal dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat jamur simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 4(1) : 49-54.
- Roberts, R. J. 1993. *Motile Aeromonad Septicaemia*. Blackwell Scientific. New Jersey. 288 Hal.
- Romimohtarto., dan Juwana. 2007. *Biologi Laut*. Djambatan. Jakarta. 540 Hal.
- Rosmania., dan Yanti, F. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2) : 76-86.

- Rowe, R. C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6<sup>th</sup> Ed. The Pharmaceutical Press. London. 888 Hal.
- Saputra, I., dan Indaryanto, F. R. 2018. Identifikasi bakteri *A. hydrophila* pada komoditas ikan yang dilalulintaskan menuju pulau Sumatera melalui pelabuhan penyeberangan Merak-Banten. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 8(2) : 155-162.
- Sarkar, M. J. A., dan M. M. Rashid. 2012. Pathogenicity of the bacterial isolate *A. hydrophila* to catfishes, carps and perch. *Journal Bangladesh Agril*, 10(1) : 157-161.
- Septiani, S., Nurcahya, E. D., dan Wijayanti, I. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan*, 13(1) : 1-6.
- Setiadi., dan Edi, F. W. 2021. Karakterisasi dan identifikasi molekuler *Aeromonas hydrophila* hasil postulat koch pada ikan nila *Oreochromis niloticus*. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 19(1) : 53-59.
- Shaker, K. H., Zohair, M. M., dan Hassan, A. Z. 2022. LC-MS/MS and GC-MS based phytochemical perspectives and antimicrobial effects of endophytic fungus *Chaetomium ovatoascomatis* isolated from *Euphorbia milii*. *Arch Microbiol*, 204(11) : 1-13.
- Siswandono., dan Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga University press. Surabaya. 490 Hal.
- Soedharma, D. D. G., Bengen, N. P., dan Zamani. 2007. *Jenis-Jenis Lamun*. Sistem Informasi Ekologi Laut Tropis, Intitut Pertanian Bogor. Bogor. 45 Hal.
- Soetan, K. O., M. A. Oyekunle, O. Aiyelaagbe., dan M. A. Fafunso. 2006. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of sorghum bicolor l. moench. *African Journal of Biotechnology*, 5(23) : 2405-2407.
- Strobel, G., Daisy, B., U. Castillo., dan J. Harper. 2003. Bioprospecting for microbial, endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4) : 491-502.
- Sudantha, I. M., dan Abadi, A. L. 2007. Identifikasi jamur endofit dan mekanisme antagonismenya terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanilla* pada tanaman vanili. *Jurnal Agroteksos*, 17(1) : 13-38.
- Sugiarti., dan Suwignyo. 2005. *Avertebrata Air Jilid 1*. Swadaya. Jakarta. 206 Hal.
- Supaphon, P., Phongpaichit, S., Rukachaisirikul, V., dan Sakayaroj, J. 2013. Antimicrobial potential of endophytic fungi derived from three seagrass species : *Cymodocea serrulata*, *Halophila ovalis* and *T. hemprichii*. *Public Library of Science*, 8(8) : 1-9.

- Suryani, Y., Taupiqurrahman, O., dan Kulsum, Y. 2020. *Mikologi*. PT. Freeline Cipta Granesia. Padang. 126 Hal.
- Suryanto, E., dan Wehantouw, F. 2009. Aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chemistry Progress*, 2(1) : 1-7.
- Tanti, B., Lisha, G., and Chandra, S. G. 2011. Wild edible fungal resources use by ethnic tribes of Nagaland, India. *Indian Journal Tradit Knowl*, 10(3) : 512-515.
- Trisnadajaja, D. 2017. Efek antibakteri senyawa metabolit yang diproduksi oleh kapang endofitik AT32 dari *Artemisia annua*. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 1(1) : 61-67.
- Triyanto. 1990. Patogenitas beberapa isolat *Aeromonas hydrophila* terhadap ikan lele (*Clarias batrachus* L). *Proceeding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang*. Jakarta: 16-18 Januari 1990. Hal 116-121.
- Ulfa, A., Khotimah, S., dan Linda, R. 2014. Kemampuan degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah gambut. *Jurnal Protobiont*, 3(2) : 259-267.
- Voigt, R. 2000. *Pharmazeutische Technologie*. Deutscher Apotheker Verlag. Germany. 717 Hal.
- Wagey, B. T., dan Sake, W. 2013. Variasi morfometrik beberapa jenis lamun di perairan kelurahan tongkeina kecamatan Bunaken. Universitas Sam Ratulangi. Manado. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 3(1) : 36-44.
- Wang, K., Shiwei, W., Bin, W., dan Jiguang, W. 2014. Bioactive natural compounds from the mangrove endophytic fungi. *Medicinal Chemistry*, 14(4) : 370-391.
- Waycott, M., McMahon, K., Mellors, J., Calladine, A., dan Kleine, D. 2004. *A Guide to Tropical Seagrasses of The Indo-West Pacific*. James Cook University. Townsville. 72 Hal.
- Wu, H., Yang, H., You, X., dan Li, Y. 2012. Isolation and characterization of saponin-producing fungal endophytes from *Aralia elata* in Northeast China. *International Journal of Molecular Science*, 13(12) : 16255–16266.
- Xiang, L., Lu, C., Huang, Y., Zeng, Z., Su, W., dan Shen, Y. 2007. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, camptotheca: isolation, identification and bioactivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(7) : 1037-1040.



- Xinyu, Liao., Jiadenghui, Yang., Zhanhu, Zhou., Jinying, Wu., Dunming, Xu., Qiaoting, Yang., Saiyi, Zhong., dan Xiaoyong, Zhang. 2023. Diversity and antimicrobial activity of intestinal fungi from three species of coral reef fish. *Journal of Fungi*, 9(613) : 1-14.
- Yati, S. J., Sumpono., dan Candra, N. 2018. Potensi aktivitas antioksidan metabolit sekunder dari bakteri endofit pada daun *Moringa oleifera* L. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 2(1) : 82-87.
- Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z., dan Jeney, G. 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *A. hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(1) : 140-145.
- Yogananth, N., Bhakayaraj,R., Chanthuru,A., Anbalagan,T., dan Nila, M. 2009. Detection of virulence gene in *A. hydrophila* isolates from fish samples using PCR technique. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 4(1) : 51-53.
- Yunita, E. A., Nanik, H. S dan Jafron, W. H. 2009. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, 11(1) : 11-17.
- Zhu, N., Liu, J., Yang, J., Lin, Y., Yang, Y., Ji, L., Li, M., dan Yuan, H. 2016. Comparative analysis of the secretomes of *Schizophyllum commune* and other wood-decay basidiomycetes during solid-state fermentation reveals its unique lignocellulose-degrading enzyme system, biotechnology for biofuels. *BioMed Central*, 9(42) : 1-22.
- Zulkifli, L., Soelistya, D. J., Mahrus., Lestari, N., dan Ayu, C. R. 2016. Isolasi bakteri endofit dari *seagrass* yang tumbuh di kawasan pantai Pulau Lombok dan potensinya sebagai sumber antimikroba terhadap bakteri patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(2) : 80-93.