KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF MIKROBA ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia marina)* SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

(Skripsi)

Oleh

FEBRINA DAMAYANTI TOGATOROP
2017011044

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

ABSTRAK

KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF MIKROBA ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia marina*) SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh

FEBRINA DAMAYANTI TOGATOROP

Infeksi saluran kemih (ISK) menjadi masalah yang serius bagi kesehatan masyarakat. Hal tersebut diakibatkan oleh pengaruh bakteri patogen salah satunya disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh senyawa bioaktif yang berasal dari fungi endofit mangrove yang berpotensi sebagai antibakteri. Isolat fungi mangrove diremajakan pada media agar koloid kitin, selanjutnya dikultivasi pada beberapa jenis media yaitu media kulit udang, media kentang dan media kedelai lalu diinkubasi dalam kondisi statis selama 14 hari. Isolat diekstraksi menggunakan etil asetat. Ekstrak kasar yang dihasilkan, diuji awal untuk mengetahui aktivitas antibakteri nya terhadap *P. aeruginosa* menggunakan metode difusi cincin agar. Ekstrak kasar difraksinasi dengan kromatografi kolom dan diuji kembali aktivitas nya terhadap *P. aeruginosa*. Fraksi aktif selanjutnya dikarakterisasi menggunakan LC-MS/MS dan FT-IR. Dalam penelitian ini, isolat 21AD2-LRKU3-3 diketahui sebagai isolat unggul penghasil senyawa antibakteri dengan aktivitas hambatan tertinggi terhadap *P. aeruginosa*. Karakteristik senyawa yang dihasilkan fraksi 21AD2-LRKU3-3 menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid dengan struktur dasar imidazol dan terdapat beberapa gugus fungsi antara lain gugus C-N pada bilangan gelombang 1120,64 cm^{-1}, gugus N-H pada bilangan gelombang 1568,13 cm^{-1}, gugus C-C pada bilangan gelombang 1247,94 cm^{-1}, pada bilangan gelombang 3446,79 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus O-H, dan gugus C=O pada bilangan gelombang 1635,64 cm^{-1}.

Kata Kunci : Fungi Endofit Mangrove, antibakteri, *P.aeruginosa*, imidazol

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM MANGROVE ENDOPHYTIC MICROBES (*Avicennia marina*) AND BIOASSAY AGAINST *Pseudomonas aeruginosa*

By

FEBRINA DAMAYANTI TOGATOROP

Urinary tract infections (UTIs) are a serious public health concern. This issue is caused by the influence of pathogenic bacteria, one of which is due to the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. This study was conducted to obtain bioactive compounds derived from mangrove endophytic fungi that have potential as antibacterial agents. Mangrove fungi isolates were maintained on chitin colloid agar media, then cultivated on several types of media, namely shrimp shell media, potato media, and soybean media, and incubated under static conditions for 14 days. The isolates were extracted using ethyl acetate. The resulting crude extracts were initially tested for their antibacterial activity against *P. aeruginosa* using the agar diffusion method. The crude extracts were fractionated using column chromatography and then retested for their activity against *P. aeruginosa*. The active fractions were further characterized using LC-MS/MS and FT-IR. In this study, the 21AD2-LRKU3-3 isolate was identified as the superior isolate producing antibacterial compounds with the highest inhibitory activity against *P. aeruginosa*. The characteristics of the compounds produced by the 21AD2-LRKU3-3 fraction indicated the presence of alkaloid compounds with an imidazole core structure and several functional groups, including the C-N group at a wavenumber of 1120,64 cm^{-1}, the N-H group at a wavenumber of 1568,13 cm^{-1}, the C-C group at a wavenumber of 1247,94 cm^{-1}, At a wavenumber of 3446,79 cm^{-1}, it indicates the absorption of the O-H group, and the C=O group at a wavenumber of 1635,64 cm^{-1}.

Keywords : Mangrove endophytic fungi, antibacterial, *P.aeruginosa*, imidazole

KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF MIKROBA ENDOFIT MANGROVE (*Avicennia marina)* SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh

FEBRINA DAMAYANTI TOGATOROP

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

Judul Skripsi	: **Karakterisasi Senyawa Bioaktif Mikroba Endofit Mangrove (*Avicennia marina*) serta Uji Bioaktivitasnya terhadap *Pseudomonas aeruginosa***
Nama	: Febrina Damayanti Togatorop
NPM	: 2017011044
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Syaiful Bahri, M.Si.	**Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**
NIP. 197308252000031001	NIP. 1958092211988111001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Syaiful Bahri, M.Si.**

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

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **22 Oktober 2024**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Febrina Damayanti Togatorop
NPM	: 2017011044
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **"Karakterisasi Senyawa Bioaktif Mikroba Endofit Mangrove (*Avicennia marina*) serta Uji Bioaktivitasnya terhadap *Pseudomonas aeruginosa*"** adalah terbukti hasil penelitian dan hasil karya tulisan saya sendiri, meliputi topik penelitian, perolehan hasil penelitian, maupun pengolahan datanya, kecuali acuan yang secara tertulis dicantumkan pada naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran untuk selanjutnya dipergunakan dengan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 22 Oktober 2024

Febrina Damayanti Togatorop
NPM. 2017011044

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Febrina Damayanti Togatorop, lahir di Aceh Tenggara, pada 14 Februari 2003. Penulis merupakan anak kedua dari pasangan Bapak Humuntal Jon Hendri Togatorop dan Ibu Lamria Crista Br Pardede. Penulis menempuh pendidikan tingkat dasar di SD Swasta Santo Yoseph Lawe Desky pada tahun 2008 dan melanjutkan pendidikan di SMP Swasta Pantiharapan Lawe Desky pada tahun 2014. Pada tahun 2017, penulis melanjutkan pendidikan di SMA Swasta Pantiharapan Lawe Desky dan berhasil menyelesaikan studi pada tahun 2020. Pada tahun 2020 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti beberapa organisasi, yaitu Badan Eksekutif Mahasiswa tingkat Fakultas (GARUDA BEM FMIPA Unila) sebagai anggota pengurus bidang Dinas Sains dan Pengabdian Masyarakat (SPM) periode 2021, sebagai anggota pengurus Divisi 1 (Informasi dan Dasar Kepemimpinan Kristen) dalam Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Kristen Universitas Lampung pada periode 2023, dan penulis juga aktif dalam kepengurusan persekutuan Oikumene Mahasiswa MIPA (POMMIPA) Universitas Lampung.

Pada tahun 2023 penulis melaksanakan Kulia Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari hingga Februari di Desa Kagungan, Kecamatan Lumbok Seminung, Lampung Barat. Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) selama bulan Juli 2023 di Laboratorium Balai Pengujian Mutu Barang – Direktorat Standarisasi dan Pengendalian Mutu Kementerian Perdagangan, Jakarta Timur dengan topik**"Verifikasi Metode Penentuan Kadar Silika sebagai SiO_2 secara Gravimetri dalam Pupuk Dolomit".**

MOTTO

"Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang" Amsal 23:18

"Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya." Matius 21:22

Doakan apa yang kamu **kerjakan**, **kerjakan** apa yang kamu **Doakan**
"Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan!" Yeremia 17:7

"Kelemahan terbesar kita adalah bersandar pada kepasrahan. Jalan yang paling jelas menuju kesuksesan adalah selalu mencoba setidaknya satu kali lagi"
-Thomas A. Edison

PERSEMBAHAN

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

TUHAN YESUS KRISTUS

Sebagai bentuk rasa syukur kepada-Nya karena telah menuntun dan menopangku serta memberikan nikmat karunia pertolongan yang tiada henti.

Orang tuaku tercinta

Bapak Humuntal Jon Hendri Togatorop dan Ibu Lamria Crista Br Pardede yang telah merawat dan berjuang membesarkan, mencurahkan segala kasih sayang dan cintanya, mendukung, menyemangati dan senantiasa mendoakan yang terbaik bagi anaknya.

Kakak dan Adik-adikku tersayang yang selalu menjadi penyemangat terbaik dan selalu mendukungku.

Sahabat dan teman-temanku yang selalu membersamai dan selalu menyemangati.

Almamater tercinta Universitas Lampung

Untuk diriku yang berusaha keras dan berjuang sejauh ini.

SANWACANA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas limpahan rahmat dan segala anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan skripsi ini dengan sangat baik yang berjudul **"Karakterisasi Senyawa Bioaktif Mikroba Endofit Mangrove (*Avicennia marina*) serta Uji Bioaktivitasnya terhadap *Pseudomonas aeruginosa*"**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) jurusan kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan, dan nasehat dari berbagai pihak selama penyusunan skripsi ini. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis tercinta, bapak Humuntal Jon Hendri Togatorop dan Ibu Lamria Crista Br Pardede, yang selalu memberikan dukungan, memberikan afirmasi positif kepada penulis hingga sampai pada tahap ini. Terimakasih atas segala pengorbanan, nasihat dan doa terbaik yang tidak pernah henti kalian berikan.
2. Kakak dan Adik-adik penulis yang tersayang, Endang Ropika Togatorop, S.E., Triany Romaito Togatorop, Cattrin Wilson Lasmaria Togatorop, Kenziro Rizky Togatorop, dan Jesica Prisila Klaudia Togatorop yang tiada hentinya mendukung dan menyemangati penulis. Terimakasih sudah menjadi support system terbaik bagi penulis.
3. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., dosen pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan

terbaiknya, serta kesabaran, motivasi dan memberikan banyak ilmu kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

4. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D., dosen pembimbing kedua penulis yang telah membimbing, memberikan banyak saran dan nasehat selama pengerjaan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si., dosen penguji penulis yang telah memberikan arahan , kritik dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc., dosen pembimbing akademik penulis yang telah membimbing penulis, memberikan arahan dan nasihat dalam membantu penulis menyelesaikan studi dan skripsi ini.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti , S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila yang membantu dan memperlancar penulis selama menempuh studi di Jurusan Kimia.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila atas ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan, serta seluruh Staf Administrasi di Jurusan Kimia dan Fakultas MIPA yang telah membantu penulis dalam pelayanan administrasi yang dibutuhkan selama perkuliahan.
10. Teman-teman seperbimbingan, Laura Sianipar, Ni Komang Vivi, Sekar Arum, Yasmin Fahira dan Carlos Daniel yang telah sama-sama berjuang menyelesaikan penelitian, memberikan semangat, berbagi pengalaman dan motivasi.
11. Kakak dan rekan-rekan peneliti di UPT-LTSIT, Alda Nurmala Dewi, Ester Monika, M. Irfan, Kak Fendi, Kak Cici, Kak Lanang, Kak Indra, Kak Ibnu, Mba Rosyi, Fayza dan Nadira yang selalu membantu dan menemani penulis selama penelitian.
12. Teman terdekat penulis *the.girls.luv*, Debi Debora Sembiring, Laura Luckyana Sianipar, Rusmauli Defana Panjaitan, Misye Cristiany Siagian yang selalu menemani penulis selama masa perkuliahan baik dalam suka maupun

duka, saling mendengarkan keluh kesah. Terimakasih telah memberi warna selama masa perkuliahan ini.

13. Debora Manik, Yesika Banjarnahor, Martin Napitupulu, Devanand Sihombing, Rendi Jonathan Purba, Yasminia Friska, Ester Diba, Roma Ito Sihombing dan teman-teman kos pondok indah yang telah menemani selama perkuliahan dan senantiasa memberikan motivasi untuk menjadi lebih baik. Terimakasih sudah mengisi hari-hari penulis sehingga membuat penulis tidak merasa sendirian.
14. Teman-teman Kimia angkatan 2020 terutama kelas C, terimakasih atas segala dukungan dan motivasi yang diberikan selama perkuliahan hingga akhir.
15. UKM Kristen yang menjadi rumah dan keluarga bagi penulis selama masa perkuliahan. Terimakasih atas pelayanan, kebersamaan, semangat dan canda tawa. Semoga UKM Kristen senantiasa tetap menjadi wadah pelayanan yang baik bagi mahasiswa/I Kristen yang ada di Universitas Lampung.
16. Persekutuan Oikumene Mahasiswa MIPA (POMMIPA) yang menjadi rumah kedua bagi penulis selama masa perkuliahan. Kiranya POMMIPA juga senantiasa menjadi wadah pelayanan bagi mahasiswa/I Kristen yang ada di Fakultas MIPA.
17. Almamater Universitas Lampung.
18. Seluruh pihak yang tidak tersebutkan satu persatu, yang telah membantu dan mendoakan serta memberikan dukungan kepada penulis.

Bandar Lampung, 22 Oktober 2024
Penulis

Febrina Damayanti Togatorop
2017011044

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL xv

DAFTAR GAMBAR xvi

I. PENDAHULUAN 1

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Tujuan Penelitian. 3

1.3. Manfaat Penelitian 3

II. TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1. Ekosistem Mangrove 4

2.2. Fungi Endofit Mangrove 5

2.3. Uji Aktivitas Antibakteri 6

2.4. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 7

2.6. Kultivasi 9

2.7. Maserasi 10

2.8. Kitin 11

2.9. Metode Pemisahan dan Pemurnian Secara Kromatografi 12

2.9.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 13

2.9.2. Kromatografi Kolom 14

2.10. Karakterisasi Senyawa 15

2.10.1. *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) 15

2.10.2. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR) 18

III. METODE PENELITIAN 20

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 20
3.2. Alat dan Bahan 20
3.3. Prosedur Penelitian 21
3.3.1. Peremajaan Isolat Fungi Endofit Mangrove 21
3.3.2. Kultivasi Isolat Fungi Endofit 21
3.3.3. Ekstraksi Hasil Kultivasi 22
3.3.4. Uji Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *P. aeruginosa* 22
3.3.5. Uji Kromatografi Lapis Tipis 23
3.3.6. Fraksinasi Kromatografi Kolom 24
3.3.7. Karakterisasi Senyawa 24

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 25
4.1. Peremajaan Isolat Fungi serta Pengamatan Makroskopis 25
dan Mikroskopis 25
4.2. Kultivasi dan Ekstraksi Fungi 26
4.3. Uji Awal Aktivitas Antibakteri (Skrining) 29
4.4. Fraksinasi Kromatografi Kolom Senyawa Bioaktif 30
4.5. Karakterisasi Senyawa 36
4.5.1. Karakterisasi Senyawa dengan Analisis *Liquid* 36
Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS/MS) 36
4.5.2 Karakterisasi Senyawa dengan *Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer* (FT-IR) 40

V. KESIMPULAN 42
5.1. Kesimpulan 42
5.2. Saran 43

DAFTAR PUSTAKA **44**

LAMPIRAN **53**

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Identifikasi Makroskopis Fungi Endofit Mangrove 25

2. Identifikasi Mikroskopis Fungi Endofit Mangrove 26

3. Massa Ekstrak Kasar 28

4. Pengamatan KLT Ekstrak Kasar Isolat Fungi di bawah sinar UV254nm dan Visualisasi menggunakan serium sulfat 28

5. KLT Hasil Fraksinasi Ekstrak Kasar 21AD2-LRKU (Fraksi 1-21) 32

6. KLT Hasil re-kolom Sampel 21AD2-LRKU3(1-12) 34

7. Analisis Puncak TIC Sampel 21AD2-LRKU3-3 36

8. Gugus Fungsi Hasil Analisis FT-IR 41

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Ekosistem Mangrove 4

2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 7

3. Struktur Kitin 11

4. Kromatografi Lapis Tipis 13

5. Total Ion Chromatogram (TIC) LC-MS/MS Fraksi Aktif 16

6. Puncak Kromatogram waktu retensi 7.63 17

7. Perkiraan Struktur Senyawa Alkaloid Fraksi Aktif 17

8. Spektrum IR Kristal Fraksi Aktif 19

9. Kultivasi isolat fungi (a) media kultur kulit udang; (b) media kentang; dan (c) media kedelai 27

10. Hasil Skrining Antibakteri Terhadap Bakteri *P. aeruginosa* 30

11. Fraksinasi ekstrak Kasar 21AD2-LRKU melalui Kromatografi Kolom 31

12. Hasil Skrining Antibakteri pada Ekstrak Fraksi terhadap *P.aeruginosa* 33

13. Hasil Skrining Antibakteri pada 3 Ekstrak Fraksi hasil re-kolom terhadap *P. aeruginosa* 34

14. Pengamatan di bawah Sinar UV 254nm (a), Visualisasi menggunakan pereaksi serium sulfat (b); *Dragendorff* (c); Ninhidrin (d); dan Vanilin (e) 35

15. Perkiraan Struktur Senyawa Alkaloid Sampel 21AD2-LRKU3-3 39

16. Struktur Dasar Imidazol 39

17. Spektrum FT-IR Sampel 21AD2-LRKU3-3 40

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan salah satu masalah serius bagi kesehatan masyarakat, dengan 8,3 juta kasus pertahun menempati urutan ke dua setelah infeksi saluran pernapasan (Depkes, 2022). Penyebab yang meningkatkan angka kejadian infeksi saluran kemih antara lain karena dipengaruhi bakteri (urapatogen) *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*, dan dapat dipengaruhi oleh faktor penyakit seperti HIV dan inkontinensia, serta pengaruh faktor lain seperti penggunaan popok yang lama pada anak-anak, kebiasaan kebersihan yang buruk dan ancaman-ancaman lainnya (Irawan, 2018). ISK lebih tinggi terjadi pada wanita dibandingkan pria karena uretra wanita lebih pendek dan dekat dengan area perianal dan vagina, sehingga mikroorganisme dari luar lebih mudah masuk ke kandung kemih (Hermiyanty, 2016).

Pemberian antibiotik merupakan salah satu cara yang digunakan dalam metode pengobatan infeksi. Antibiotik efektif digunakan dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh jamur, virus atau non-bakteri lainnya. Penggunaan antibiotik dapat memberikan dampak positif bagi kesehatan (Amarullah *et al.*, 2022). Namun penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menjadi pemicu munculnya resisten antibiotik (Sinto, 2021). Menteri Kesehatan nomor 8 tahun 2015 menjelaskan bahwa resistensi antibiotik merupakan kemampuan mikroorganisme untuk bertahan hidup terhadap efek antibiotika sehingga berkurangnya keefektifan dalam penggunan klinis, dan merupakan salah satu permasalahan kesehatan global yang paling serius (Hutapea *et al.,* 2021). Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat menyebabkan kegagalan terapi yang fatal. Laporan dari Badan Kesehatan Dunia (WHO) mengatakan bahwa Asia

Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik di dunia. Menurut Komite Pengendalian Resistensi Antimikroba, terjadi peningkatan resistensi di Indonesia yakni mencapai hingga 60,4% pada tahun 2019. Angka kematian akibat resistensi antibiotik sebanyak 25.000 jiwa dan menyebabkan kerugian lebih dari 15 juta dollar untuk biaya kesehatan dan hilangnya produktivias pekerja (Mulatsari *et al*., 2023).

Indonesia tercatat sebagai negara yang memiliki jenis mangrove terkaya di dunia, vegetasi hutan mangrove di Indonesia memiliki keanekaragaman jenis yang tinggi. Tumbuhan mangrove merupakan tumbuhan yang hidup di daerah berlumpur, basah dan terletak di perairan pasang surut daerah tropis. Tumbuhan mangrove ini memiliki manfaat salah satunya untuk menjaga pantai dari abrasi (Giyanirfani, 2020). Tumbuhan Mangrove juga diketahui memiliki banyak manfaat untuk keperluan obat-obatan alamiah (Rahmah, 2021). Tumbuhan mangrove menjadi salah satu jenis tumbuhan yang banyak ditemukan di banyak wilayah Indonesia, sebagian besar ditemukan di wilayah Sumatera dan Jawa. Di Pesisir Lampung di Pulau Sumatera, ada banyak jenis tanaman mangrove, seperti *Avicennia sp., Rhizophora sp., Lumnitzera sp., Sonneratia sp*., dan sebagainya.

Bagian dari tumbuhan mangrove yang dapat dimanfaatkan adalah akar, kulit, batang, dan daun. Tumbuhan mangrove sendiri diketahui mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tannin, senyawa fenolat, klorofil, karotenoid, terpenoid, dan alkaloid (Ridlo *et al,* 2017). Tumbuhan mangrove juga berperan sebagai sumber karbohidrat, protein, lemak, maupun senyawa-senyawa metabolit sekunder (Handayani, 2018). Mangrove merupakan tumbuhan yang mengandung banyak senyawa bioaktif yang berasal dari mikroorganisme yang mensintesis senyawa bioaktif yang mirip dengan senyawa yang dihasilkan.

Fungi adalah salah satu organisme yang berasosiasi pada mangrove. Fungi endofit mangrove menyediakan berbagai senyawa bioaktif yang menjanjikan untuk mendapatkan struktur obat yang belum pernah ada sebelumnya dengan

bioaktivitas yang sangat tinggi (Palanichamy *et al.,* 2018). Senyawa bioaktif tersebut berasal dari mikroorganisme yang mensintesis senyawa bioaktif mirip dengan senyawa yang dihasilkan. Fungi endofit mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder dan senyawa yang fungsional. Senyawa yang dihasilkan dari jamur endofit dapat berupa antikanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan sebagainya (Posangi dan Bara, 2014).

Penelitian ini difokuskan pada fungi endofit mangrove dari isolat yang diisolasi dan ditumbuhkan pada media adaptasi. Pengujian aktivitas antibakteri pada metabolit yang dihasilkan dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan senyawa yang dihasilkan yang memiliki aktivitas terbaik selanjutnya akan dikarakterisasi menggunakan *Liquid Chromatography Mass-Spectrometry (*LC-MS/MS) *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR).

1.2. Tujuan Penelitian.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memperoleh senyawa bioaktif yang diisolasi dari endofit tanaman mangrove *A. marina.*
2. Mendapatkan aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit mangrove *A.marina.*
3. Memperoleh karakteristik senyawa bioaktif dari isolat unggul *A. marina* menggunakan *instrument Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR).

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi senyawa bioaktif yang diperoleh dari fungi endofit mangrove *A.marina* yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekosistem Mangrove

Gambar 1. Ekosistem Mangrove (Sumber : https://radarsatu.com)

Wilayah pesisir merupakan ekosistem transisi yang dipengaruhi daratan dan lautan yang mencakup beberapa ekosistem, salah satunya adalah ekosistem hutan Mangrove. Mangrove merupakan ekosistem yang pada umumnya banyak dijumpai pada pantai yang berombak relatif kecil atau bahkan terlindungi dari ombak. Mangrove merupakan tipe vegetasi yang terdapat di daerah pantai dan dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Ciri lain dari hutan mangrove adalah tumbuh didaerah pantai dengan kondisi tanah berlumpur atau berpasir atau berlumpur pasir (Faizal *et al*., 2023).

Hutan mangrove di dunia mencapai sekitar 16.530.000 ha yang tersebar di Asia (7.441.000 ha), Afrika (3.258.000 ha), dan Amerika (5.831.000 ha). Indonesia dilaporkan merupakan salah satu Negara yang memiliki hutan mangrove terluas didunia (Khairunnisa *et al.,* 2020). Indonesia sendiri memiliki luas yang paling tinggi, yaitu 3.112.989 ha atau 22,6% total luas tumbuhan mangrove dunia bahkan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan Australia (7,1%) dan Brazil (7,0%) (Giri *et*

al., 2011). Keanekaragaman dan sebaran tumbuhan mangrove di seluruh nusantara diantaranya Jawa (166 spesies), Sumatera (157 spesies), Kalimantan (150 spesies), Papua (142 spesies), Sulawesi (135 spesies), Maluku (133 spesies), dan Kepulauan Sunda Kecil (120 spesies) (Kusmana, 2014).

Mangrove memiliki manfaat seperti tempat pembibitan untuk spesies yang bernilai komersial dan rekreasi, titik tempat burung yang bermigrasi, penyaringan sedimen, nutrisi dan polutan, peningkatan perikanan pesisir, mendukung pariwisata, melindungi garis pantai terhadap bencana alam seperti banjir dan perlindungan masyarakat pesisir dari gelombang dan kondisi cuaca ekstrim (Onyena dan Sam, 2020). Tanaman mangrove terdapat beberapa genus yaitu, *Avicennia; Snaeda; Laguncularia; Lumnitzera; Conocarpus; Aegialitis; Rhizhophora; Brugiera; Ceriops; dan Sonneratia* (Waardenburg *et al*,. 2023). Ekosistem mangrove dikawasan pesisir Lampung terdapat beberapa jenis mangrove seperti Avicenna marina, Rhizophora mucronate, Avicenna officinalis, dan Rhizophora apiculate (Herison *et al.*, 2021).

2.2. Fungi Endofit Mangrove

Fungi endofit adalah fungi yang berkoloni di dalam jaringan tumbuhan yang biasanya mendapatkan nutrisi dan perlindungan dari tanaman inang, serta mampu memproduksi metabolit fungsional tertentu (Tan and Zou, 2001). Fungi endofit yang berasosiasi pada tumbuhan mangrove menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menyembuhkan penyakit, sehingga mangrove banyak digunakan dalam industri farmasi dan pertanian karena kaya akan sumber matabolit sekunder (Tejesvi *et al,*. 2007). Senyawa bioaktif adalah senyawa yang ada di dalam tubuh hewan maupun tumbuhan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia (Firdayani *et al.*, 2015). Setiap mikroba diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit yang mengandung bioaktivitas tertentu. Beberapa tahun terakhir ini, penggalian sumber daya mikroba yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan (mikroba endofitik) mulai banyak mendapat perhatian. Mikroba tersebut mulai

dipelajari untuk berbagai tujuan, karena mikroba endofitik yang berasal dari tumbuhan tersebut masih banyak yang belum diketahui karakter dan potensinya, khususnya di Indonesia (Faridah dan Sari, 2019).

Mangrove memainkan peran penting dalam bidang pengobatan karena mampu menghasilkan senyawa obat yang memiliki kemampuan untuk penyembuhan penyakit atau dapat digunakan sebagai antibakteri. Bagian-bagian mangrove yang biasa dimanfaatkan terdiri dari pucuk, daun dan batang (Susanti dan Mona, 2021). Mikroba yang berasosiasi terhadap tanaman mangrove menjadi salah satu sumber dalam memperoleh berbagai senyawa dengan aktivitas biokimia baru, serta keragaman struktural unik yang memiliki aktivitas secara farmakologis (Simões *et al*., 2015).

Salah satu jenis mangrove yang dapat dimanfaatkan adalah *Avicennia marina*. Spesies mangrove *Avicennia sp*. sangat penting karena kulit, daun, dan akarnya telah digunakan secara tradisional untuk menyembuhkan penyakit kulit, reumatik, cacar, bisul, dan pakan ternak. Halidah, 2014 mengemukakan bahwa *A. marina* disebut dengan api-api putih, berupa pohon yang tumbuh tegak dengan ketinggian mencapai 30 m. *A. marina* memiliki struktur anatomi yang kompleks. Struktur anatomi *A.marina*, seperti mangrove pada umumnya, mempunyai mekanisme adaptasi untuk dapat menyesuaikan diri pada kondisi lingkungan yang ekstrem, sehingga *A. marina* tetap dapat bertahan hidup (Ademiluyi *et al.,* 2016).

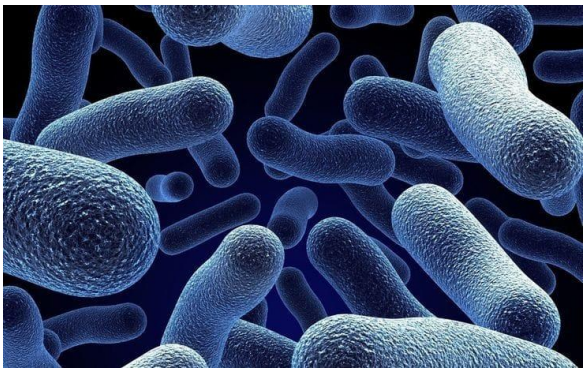
2.3. Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Yudono *et al.*, 2014). Sebagian besar endofit yang diisolasi dari tanaman dikenal memiliki aktivitas antibakteri. Mereka membantu dalam mengendalikan patogen mikroba pada tanaman dan/atau hewan. Endofit yang diisolasi dari tanaman obat menunjukkan bioaktivitas untuk spektrum luas

mikroorganisme pathogen. Endofit mampu mensintesis senyawa bioaktif yang digunakan oleh tanaman untuk pertahanan terhadap patogen dan beberapa senyawa telah terbukti berguna untuk penemuan obat baru (Turap *et al*., 2023). Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari suatu antibiotik. Hasil sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka pertumbuhannya semakin terhambat sehingga dibutuhkan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut resisten atau sensitif terhadap suatu antibiotik (Khusuma *et al*., 2019).

Salah satu metode pengujian bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dilakukan dengan metode difusi cincin agar. Metode difusi cincin agar digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba, yang dilakukan dengan teknik menanamkan *ring* pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme sehingga antibiotik dapat dimasukkan. Selanjutnya cawan petri tersebut diinkubasi dan agen antimikroba akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Mayasari, 2006).

2.4. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sumber : https://develindobel.indonesiabelajar.org)

Bakteri *P.aeruginosa* merupakan bakteri phatogen oportunistik dan sangat adaptif. Bakteri ini tahan terhadap berbagai tekanan lingkungan, dan mampu bertahan selama lebih dari 40 tahun (Utami *et al.*, 2020). *P.aeruginosa* merupakan bakteri gram negative berbentuk batang lurus atau lengkung berukuran sekitar 0,6 x 2 μm dan memiliki bau manis seperti anggur atau seperti jagung. Dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek. Tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung (*sheath*), serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. *P.aeruginosa* hidup dengan baik pada rentang suhu 25°C - 37°C. Secara spesifik bakteri *P. aeruginosa* mampu bertahan hidup dengan kondisi suhu 42 °C (Toyofuku *et* al., 2012). Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen. *P. aeruginosa* adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media pembiakan, karena memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana (Mayasari, 2006).

Klasifikasi bakteri *P. aeruginosa* menurut Siegrist (2010) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Pseudomonadales*
Famili : *Pseudomonadadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa tersebar luas di alam dan biasanya terdapat di lingkungan yang lembap di rumah sakit. Bakteri ini dapat tinggal pada manusia normal, dan berlaku sebagai saprofit. *P. aeruginosa* hanya bersifat patogen bila masuk ke daerah yang fungsi pertahanannya abnormal, misalnya pada selaput mukosa dan kulit yang robek karena kerusakan jaringan langsung, pada pemakaian kateter intravena atau kateter air kemih, atau bila terdapat netropenia, misalnya pada kemoterapi kanker (Siwi, 2009). *P. aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) dan pneumonia (Yudono *et al*., 2014). *P. aeruginosa*

merupakan patogen yang sangat sulit diatasi akibat adanya peristiwa resistensi instrinsik tinggi berbagai macam antibiotik. Kemampuan adaptasi yang luar biasa terhadap perubahan kondisi dan tekanan lingkungan, termasuk paparan antibiotik menyebabkan *P. aeruginosa* berperan dalam pengembangan resistensi adaptif antimikroba (Penesyan *et al*., 2020). Kultivasi sangat penting untuk pertumbuhan sel dan produksi bioaktif senyawa oleh mikroorganisme.

2.6. Kultivasi

Kultivasi dilakukan sebagai media pertumbuhan yang berfungsi untuk memperbanyak jumlah mikroba dan memperoleh senyawa metabolit. Media pertumbuhan terdiri dari beberapa macam seperti media pertumbuhan universal atau umum hingga media selektif diferensial (Wahyuningsih and Zulaika, 2019). Proses kultivasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti temperatur, pH, konsentrasi oksigen dan tekanan yang sesuai dengan lingkungan alaminya. Isolat fungi endofit dikultivasi hingga terjadi perubahan warna medium. Perubahan warna pada medium terjadi karena fungi endofit akan menghasilkan metabolit sekunder dan akan dikeluarkan ke media yang menyebabkan medium mengalami perubahan warna baik memudar atau menjadi lebih gelap tergantung pada metabolit sekunder yang dihasilkan dari masing-masing fungi. Fungi endofit akan tumbuh selama kultivasi, kemudian akan mengapung dipermukaan botol dan menutupi permukaan botol karena kultivasi dilakukan dalam keadaan statis (Junaidi, 2018).

Solid State Fermentation (SSF) merupakan teknik umum yang digunakan untuk produksi metabolit mikroba. *Solid State Fermentation* (SSF) merupakan teknik fermentasi yang menggunakan substrat/media padat, seperti kulit udang; kentang; beras dan sebagainya dengan kondisi pertumbuhan yang menyerupai lingkungan asal dari mikroorganisme (Thomas *et al*., 2013). Mikroorganisme memanfaatkan sumber nutrisi atau karbon dari matriks padat untuk mempercepat pertumbuhan, perkembangan, dan aktivitas metabolismenya. Selama proses fermentasi,

mikroorganisme menghasilkan enzim untuk mendegradasi molekul substrat yang dibutuhkan (Suresh *et al.*, 2011).

Dalam proses SSF, ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan agar produksi metabolit oleh suatu mikroorganisme berlangsung dengan baik. Beberapa faktor tersebut di antaranya yaitu pH, suhu, inokulum, media fermentasi, udara, mikro dan makronutrien, karena mempengaruhi proses SSF secara signifikan. Selain itu, komposisi kimia, ukuran partikel, dan kelembaban substrat memainkan peran penting pada proses SSF (Srivastava *et al*., 2019). Metode *solid state fermentation* (SSF) memiliki beberapa keunggulan, di antaranya merupakan metode sederhana, biaya yang relatif rendah, potensi sumber daya substrat yang melimpah, produktivitas fermentasi dan stabilitas yang lebih tinggi, sterilitas yang lebih rendah, dan kecilnya kemungkinan untuk kontaminasi (Singhania *et al*., 2009).

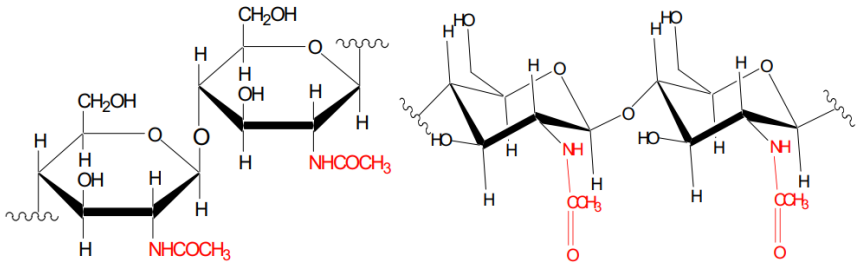
2.7. Maserasi

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa yang diinginkan dari suatu sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Teknik ini didasarkan pada perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut atau lebih yang tidak saling bercampur (Seidel, 2006).

Maserasi merupakan metode ekstraksi tradisional, digunakan untuk mengesktrak berbagai senyawa yang dibantu dengan pengadukan, partisi (ekstraksi dengan corong pisah) atau ekstraksi Soxhlet. Maserasi merupakan salah satu teknik metode ekstraksi yang dilakukan dalam isolasi dan pemurnian komponen suatu senyawa (Khoddami *et al*., 2013). Prinsip maserasi adalah pelarut menarik senyawa metabolit sekunder berdasarkan sifat kepolarannya dalam suatu pelarut (*like dissolve like*). Senyawa bioaktif yang terkandung dalam simplisia akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel, seperti prinsip difusi di mana larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut yang memiliki konsentrasi rendah (Ulfah, 2020).

Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai agar dapat melarutkan analit dalam sampel. Sampel biasanya direndam selama rentang waktu 24 jam sambil diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan analit. Ekstraksi dilakukan berulang kali untuk memastikan analit terekstraksi secara sempurna. Semua analit telah terekstraksi secara sempurna ditandai dengan pelarut yang digunakan yang tidak berwarna (Fenolik *et al*., 2016). Keunggulan metode ini adalah prosesnya yang sangat sederhana dan alat yang mudah digunakan untuk analit yang tahan terhadap pemanasan dan yang tidak tahan terhadap pemanasan. Namun kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut dan membutuhkan waktu yang cukup lama (Leba, 2017).

2.8. Kitin



Gambar 3. Struktur Kitin (Malis *et al*., 2022).

Kitin adalah salah satu polimer organik yang paling melimpah di alam, yang tersusun atas unit-unit molekul β-D-glukosamin dan gugus N-asetil (Ameh *et al*., 2014). Kitin merupakan senyawa amino polisakarida berbentuk polimer gabungan yang biasanya banyak ditemukan dalam keadaan bergabung dengan protein, mineral dan berbagai macam pigmen. Kitin bersifat tidak larut dalam air atau pelarut organik biasa (Damanik, 2011). Kitin memiliki rumus kimia $(C_8H_{13}O_5N)n$, dan dianggap sebagai polisakarida kompleks, yang strukturnya

menyerupai selulosa tetapi dengan satu gugus hidroksil pada setiap monomer digantikan oleh gugus asetil amina (Oyatogun *et al.*, 2020). Polimer kitin tersusun dari monomer monomer; 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N- asetil glukosamin) (Dompeipen *et al*., 2016).

Kitin sering diproduksi secara kimiawi dari limbah (kepala dan kulit) udang yang mudah diperoleh dan berlimpah ketersediaannya di alam. Limbah kulit udang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produk industri. Limbah kulit udang mengandung senyawa kitin dan kitosan. Kandungan kitin pada limbah kulit udang sekitar 20% - 50% berat kering (Dompeipen *et al.,* 2016). Limbah kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25% - 44%), kalsium karbonat (45% - 50%), dan kitin (15% - 20%). Proses pembuatan kitin dari kulit cangkang udang dimulai dengan pengecilan ukuran cangkang udang, kemudian dilakukan demineralisasi atau proses penghilangan mineral dan selanjutnya dilakukan proses penghilangan protein atau proses untuk memisahkan ikatan kitin dengan protein yang terkandung di dalam kulit udang atau deproteinasi. Mineral dalam kulit udang berkisar antara 30% - 40% sedangkan kandungan proteinnya kurang lebih sekitar 35%. Protein pada limbah udang ini berikatan dengan kitin yang akan diisolasi. Proses penghilangan mineral dapat dilakukan dengan melarutkan kulit udang ke dalam asam klorida (Prasetyaningrum *et al.*, 2007).

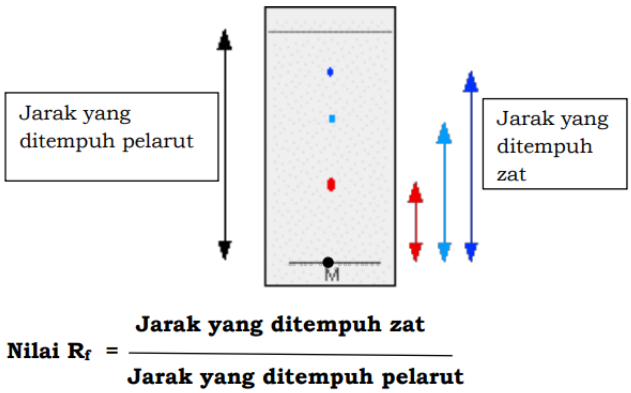
2.9. Metode Pemisahan dan Pemurnian Secara Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang dimana analit-analit dalam sampel terdistribusi antara dua fase yaitu fase diam dan gerak. Fase diam dapat berupa bahan padat dalam bentuk molekul kecil atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan pada pendukung padat atau dilapiskan pada dinding kolom. Sedangkan fase gerak dapat berupa gas atau cairan (Siwi, 2009).

2.9.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan tipe kromatografi cair yang fase diamnya berupa lapisan tipis adsorbent partikel yang seragam dalam bentuk pelat gelas, aluminium foil, atau plastik. Kromatografi lapis tipis merupakan teknik kromatografi yang berguna untuk memisahkan senyawa organik. Karena kesederhanaan dan kecepatan KLT, sering digunakan untuk memantau kemajuan reaksi organik dan untuk memeriksa kemurnian produk. Kromatografi lapis tipis adalah teknik kromatografi planar sederhana, hemat biaya, dan mudah dioperasikan yang telah digunakan di laboratorium kimia umum selama beberapa dekade untuk memisahkan senyawa kimia (Rosamah, 2019).

Dalam prosedur dasar KLT, larutan sampel di aplikasikan berupa spot pada lempeng plat KLT, dan dimasukkan ke dalam bejana tertutup dan bagian dasar dari bejana diisi dengan fase geraknya (eluen) yang biasanya terdiri dari campuran dari beberapa pelarut yang akan bergerak pada permukaan KLT. Setelah pemisahan, pelat di angkat dari bejana dan ditandai untuk dihitung nilai Rf-nya (Asfiyah, 2020).



Gambar 4. Kromatografi Lapis Tipis (Falabiba *et al.,* 2014).

Nilai Rf tidak selalu konstan dan bergantung pada banyak faktor seperti kualitas fase diam, ketebalan lapisan, kelembaban, jarak elusi, dan suhu. Apabila hasil

identifikasi menunjukkan nilai Rf yang sama pada beberapa komponen, maka dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama. Sebaliknya, jika nilai Rf berbeda maka menunjukkan senyawa yang berbeda (Ismail and Nielsen, 2010).

2.9.2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan preparatif yang dapat menghasilkan isolat dalam jumlah yang cukup besar dan efisien dalam hal pemurnian. Fase gerak dalam kromatografi kolom adalah cairan, sedangkan fase diam dapat berupa padat atau cair yang didukung oleh padatan inert. Dalam kaitannya dengan teori plat dan kelajuan, peran adsorben sebagai fase diam kolom kromatografi sangat penting untuk efisiensi pemisahan. Memperpanjang kolom (adsorben) dan mengurangi jumlah sampel yang diambil selama proses elusi adalah dua cara kromatografi kolom yang efisien dapat dilakukan (Fasya *et al*., 2018).

Prinsip kromatografi kolom didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Setelah sampel larutan pekat diletakkan di atas kolom, eluen dialirkan secara kontinu ke dalamnya. Dengan adanya gravitasi, eluen akan melewati kolom dan terjadi pemisahan. Eluen atau pelarut yang digunakan dimulai dengan yang paling non-polar dan kemudian dinaikkan kepolarannya secara gradien sampai terjadi pemisahan. Menurut kepolarannya, senyawa akan terelusi secara berurutan. Adanya perbedaan afinitas senyawa pada adsorben dan kelarutan senyawa pada pelarut/eluen menyebabkan pemisahan (Endarini,2016).

2.10. Karakterisasi Senyawa

2.10.1. *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

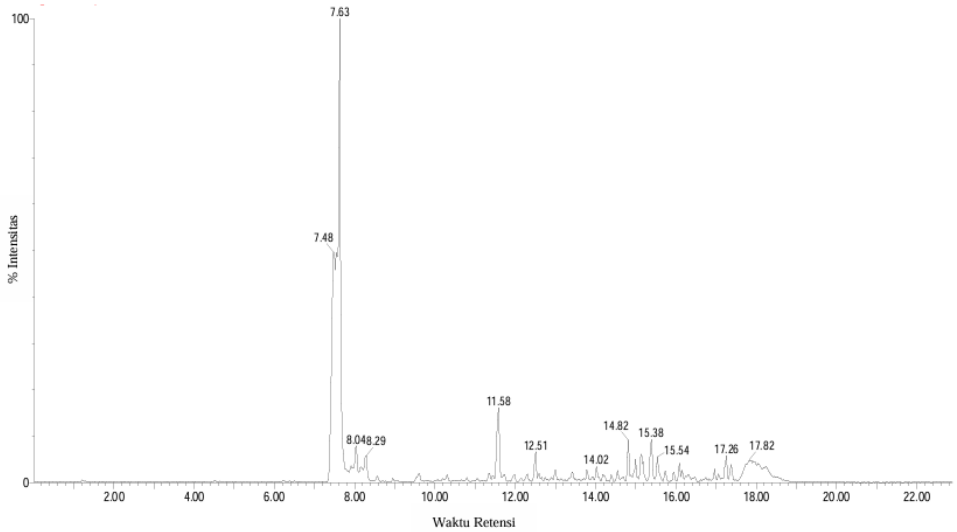
Kromatografi cair spektrometri massa (LC-MS/MS) merupakan instrumen analisis sebagai pemisah komponen-komponen analit dalam sampel, serta spektrometri massa sebagai detektor. Kolom kromatografi cair mampu memisahkan hampir semua campuran yang bisa dilarutkan, sedangkan spektrometri massa akan mengionisasi *peak* yang dipisahkan dan menghasilkan berat molekul setiap komponen *peak* tersebut serta dapat menghasilkan pola fragmentasi untuk proses identifikasi dan kuantifikas (Harmita *et al*., 2019). Data LC-MS/MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Mangurana *et* al., 2019).

Keuntungan dari LC-MS/MS yaitu spesifisitas dan sensitivitas yang lebih tinggi; lebih mudah dalam preparasi sampel; tidak diperlukan derivasi; mengurangi waktu analisis; jumlah sampel yang dibutuhkan jauh lebih sedikit; dan dapat menghasilkan data kuantitatif maupun kualitatif melalui seleksi ion yang sangat cepat dan banyak parameter (Keifer *et* al., 2017).

Kelebihan dari teknologi LC-MS/MS adalah sebagai berikut (Vogeser *et al*., 2008):

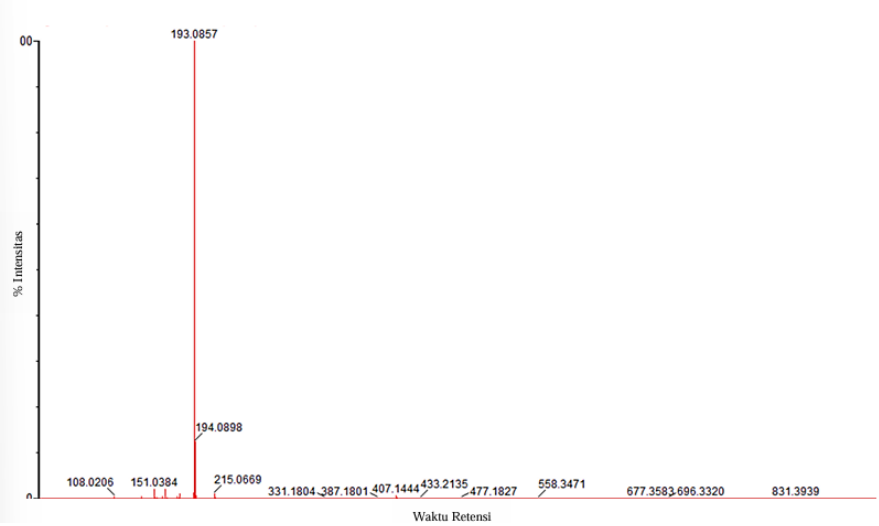
1. Spesifitas. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spectrometer massa sebagai detektor.
2. Aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis. Penerapan LC-MS/MS tidak terbatas untuk molekul volatile (biasanya dengan berat molekul di bawah 500 Da) dan mampu mengukur analit yang sangat polar.
3. Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.

4. Kaya informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan oleh seleksi ion yang sanga cepat dengan banyak parameter



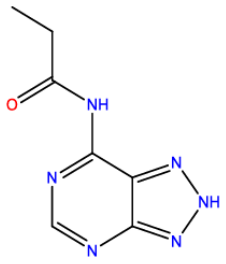
Gambar 5. Total Ion Chromatogram (TIC) LC-MS/MS Fraksi Aktif (Rachmadi, 2022).

Analisis struktur senyawa menggunakan LC-MS/MS seperti yang terlihat pada **Gambar 5** menunjukkan bahwa terdapat lima puncak dominan pada kromatogram dengan waktu retensi masing-masing 7,48 (1), 7,63 (2), 11,58 (3), 14,82 (4) dan 15,38 (5). Pada waktu retensi 7,63 diketahui merupakan puncak utama dengan kelimpahan tertinggi dan diperoleh dengan hasil interpretasi menggunakan software MassLynk diketahui puncak tersebut menghasilkan rumus molekul dominan yang memungkinkan sebagai $C_7H_8N_6O$ (Rachmadi, 2022).



Gambar 6. Puncak Kromatogram waktu retensi 7,63 (Rachmadi, 2022).

Spektrum MS pada waktu retensi 7,63 menunjukkan keberadaan base peak dengan m/z 193 dan fragmen ion dari puncak yang memiliki kestabilan terbaik (base peak) pada m/z 151 m/z 108. Berdasarkan database di PubChem, rumus molekul $C_7H_8N_6O$ merupakan senyawa dengan gugus alkaloid dari pirimidin dengan nama senyawa sebagai N-(2H-triazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yl)propanamida dengan kerangka struktur seperti pada **Gambar 6** (Rachmadi, 2022).



Gambar 7. Perkiraan Struktur Senyawa Alkaloid Fraksi Aktif (Rachmadi, 2022)

Perkiraan struktur senyawa Alkaloid pada fraksi **Gambar 7** dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibiofilm dari fraksi aktif tersebut disebabkan oleh adanya senyawa turunan pirimidin (Rachmadi, 2022). Studi literatur melaporkan bahwa senyawa turunan pirimidin menjadi salah satu senyawa menjanjikan dalam mengendalikan pembentukan biofilm, motilitas, dan faktor virulensi dari bakteri P.aeruginosa (Nadar *et al*., 2022).

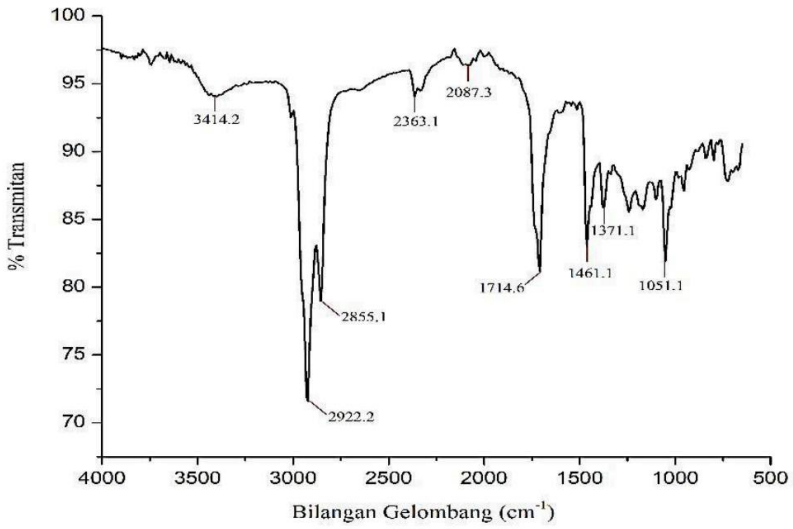
2.10.2. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR)

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan gugus fungsi dengan kemungkinan ikatan molekul pada struktur senyawa kimia. Pita serapan IR dalam spektrum sebagai bilangan gelombang dapat digunakan untuk identifikasi berbagai komponen kimia (Mohamed *et al*., 2017). FT-IR merupakan spektrofotometri inframerah suatu teknik analisis yang berdasarkan pada pengukuran vibrasi dari molekul yang tereksitasi oleh radiasi inframerah pada rentang panjang gelombang tertentu. Bila radiasi inframerah dilewatkan melalui suatu sampel, maka molekul-molekul dapat menyerap energi dan terjadi transisi diantara tingkat vibrasi dasar *(ground state)* dan tingkat vibrasi tereksitasi *(exicited state)* (Sastrohamidjojo, 2018). Pada Spektroskopi IR, radiasi IR dilewatkan melalui sampel sebagian radiasi IR diserap oleh sampel dan sebagian lainnya dilewatkan (transmit). Spektrum yang dihasilkan merepresentasikan absorbansi dan transmisi molekuler. Setiap material memiliki komposisi yang unik dan berbeda-beda, maka tidak ada dua senyawa yang menghasilkan spektrum IR yang persis sama.

Bentuk suatu struktur senyawa menentukan interaksi infra merah dengan molekul-molekulnya. Setiap gugus molekul akan bervibrasi dengan cara yang berbeda-beda. Jika frekuensi vibrasi molekul sesuai dengan radiasi inframerah, interaksi medan listrik menyebabkan perubahan vibrasi, yang menunjukkan bahwa gugus molekul telah mengabsorpsi radiasi inframerah. Perubahan energi vibrasi molekul pasti akan diikuti oleh perubahan amplitudo vibrasi molekul, yang dikenal sebagai sinyal radiasi inframerah (Nandiyanto *et al.,* 2019).

Spektrum FT-IR, seperti yang terlihat pada **Gambar 8** menunjukkan spektrum hasil analisis fraksi aktif dan didapatkan gugus fungsi senyawa alkaloid yaitu serapan gugus C-N pada bilangan gelombang 1461,7 cm^{-1}. Serapan C=O pada bilangan gelombang 1744,6 cm^{-1} dan serapan C-C rantai panjang pada bilangan

gelombang 2922,2 cm^{-1}, serta serapan gugus C-O pada bilangan gelombang 1051,1 cm^{-1} (Rachmadi, 2022).



Gambar 8. Spektrum IR Kristal Fraksi Aktif (Rachmadi, 2022).

Peneliti sebelumnya (Rachmadi, 2022) telah melakukan analisis aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten. Dari beberapa isolat tersebut peneliti sebelumnya telah menemukan isolat yang aktif sebagai antibiofilm terhadap bakteri *P. aeruginosa*, yaitu isolat fungi 20BA0502RF, dengan indikasi genus *Aspergillus sp*. Oleh sebab itu penelusuran lebih lanjut terhadap isolat lainnya perlu dikembangkan untuk mengetahui bioaktivitas sebagai antibakteri yang ada dengan perbedaan media kultivasinya seperti pada media kulit udang, media kentang dan media kedelai, karena ketiga media tersebut diketahui memiliki potensi yang besar sebagai media pertumbuhan fungi juga metabolit yang dihasilkan akan berbeda.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2023 hingga Juni 2024 di Unit Pelaksanaan Teknik Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu pipet tetes, gelas beaker, gelas ukur, Erlenmeyer, cawan petri, botol vial, *coverslip*, kaca preparat, bunsen, mikropipet 100 µL dan 1000 µL, tip mikropipet, wadah tip, *ring*, jarum ose, alat pemantik, pisau, plastik tahan panas, plastik *wrap*, label, *chamber*, kasa gulung, karet gelang, gunting, *tissue*, serbet, pinset, kapas, spatula, spidol, lidi, keranjang, botol semprot, perlengkapan Kromatografi Lapis Tipis (plat silika aluminium silika gel F254Merck), kromatografi kolom, labu evap, *rotary evaporator* Buchi/R210, *hotplate, autoclave* Tomy SX-700, *incubator Memmert-Germany/*INC-02, Lampu UV λ 254 nm, neraca analitik Wigen Houser, *Laminar Air Flow* (LAF) ESCO/AVC4A1, Mikroskop Axio Zeiss A1, *drying oven* Jisico, instrument *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS/MS) UPLC/Xevo G2-S Qtof, dan instrumen *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (FT-IR) Cary 360.

Berbagai bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit udang, kentang, beras, koloid kitin, agar-agar *plain*, isolat fungi mangrove, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), HCl*, Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), NaOH, alkohol 70%, air laut buatan yang dibuat sekitar 35 ppt, akuades, MeOH, etil asetat, pereaksi serium (IV) sulfat,

pereaksi *Dragendorff*, Reagen *Ninhidrin,* n-heksana, plat KLT silika gel, antibiotik *ciprofloxacin*, dan bakteri *P. aeruginosa*.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Peremajaan Isolat Fungi Endofit Mangrove

Peremajaan isolat fungi endofit dilakukan dengan menumbuhkan kembali isolat-isolat fungi endofit yang telah murni ke dalam media koloid kitin dengan metode *streak plate* dengan keadaan steril dalam *laminar air* flow. Media koloid kitin sebagai media pertumbuhan. Koloid kitin di proses dari bahan dasar kulit udang yang diperoleh dari limbah pasar. Sebanyak 2% koloid kitin dan 2% agar dilarutkan dalam 100 mL air laut buatan. Selanjutnya di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ selama 15 menit dan dipindahkan ke cawan petri dalam *Laminar air flow*.

Diamati pertumbuhan jamur dengan selang waktu 14 hari, lalu diidentifikasi secara makroskopis yaitu dengan mengamati karakteristik koloni seperti warna, tekstur, margin, ketinggian, dan karakteristik dan aerial hifa (Calabon *et al.,* 2019). Selanjutnya dilakukan identifikasi secara mikroskopis dengan menggunakan metode *slide culture* yang merujuk pada Setiawan *et al*., (2021) dengan beberapa modifikasi. Coverslip ukuran 22x22 mm diletakkan ke media agar dengan sudut kemiringan 45°, lalu koloni mikroba digoreskan berdekatan dengan coverslip dan diinkubasi selama 4 hingga 7 hari. Setelah itu Coverslip diambil secara perlahan menggunakan pinset steril dan diletakkan pada kaca preparat yang bersih, kemudian diamati di bawah mikroskop Axio Zeiss A1 dengan perbesaran 400x.

3.3.2. Kultivasi Isolat Fungi Endofit

Dilakukannya kultivasi yaitu bertujuan untuk memperbanyak biomassa fungi sehingga akan memperbanyak jumlah ekstrak metabolit yang dihasilkan. Dua isolat mangrove dikultivasi dengan beberapa jenis media, yaitu media kulit udang,

media kentang dan media kedelai. Prosedur ini merujuk pada (Ginting *et al.*, 2020) dengan beberapa modifikasi. Media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dibuat dari 20 g kentang, 2 g *d-glucose*, dan 100 mL air laut. Masing-masing inokulum disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ selama 15 menit. Di dalam ruangan LAF, media PDB diberi isolat fungi menggunakan jarum ose bulat, dan kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Inokulum yang telah berumur 7 hari dipindahkan kedalam media pertumbuhan, kemudian diinkubasi selama 14 hari.

3.3.3. Ekstraksi Hasil Kultivasi

Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan dua atau lebih komponen yang diinginkan dengan menambahkan pelarut yang dapat melarutkan komponen tersebut. Hasil kultivasi isolat fungi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat (EtOAc) dan disimpan pada suhu ruang selama 1 x 24 jam, kemudian disaring filtrat dengan kertas saring. Selanjutnya, hasil ekstraksi tersebut dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kasar. Hasil ekstrak kasar tersebut digunakan untuk uji skrining antibakteri untuk mengetahui keaktifan dari sampel terhadap bakteri *P. aeruginosa.*

3.3.4. Uji Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *P. aeruginosa*

Bakteri yang digunakan untuk skrining antibakteri pada penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari deposit yang tersedia pada Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung. Peremajaan bakteri dilakukan sebelum digunakan dalam pengujian agar bakteri dalam kondisi yang aktif. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan media agar *Tryptic Soy Agar* (TSA), dilarutkan 3 g TSA dalam 100 mL akuades. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Media dimasukkan ke dalam cawan petri dan digoreskan sedikit biakan bakteri *P. aeruginosa* menggunakan jarum ose bulat

steril dalam *Laminar Air Flow*. Bakteri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37℃. Selanjutnya bakteri uji yang sudah tumbuh diinokulasi menggunakan media TSB 3% dan diinkubasi selama 2 jam.

Inokulum yang telah ditumbuhi bakteri disuspensikan ke dalam vial 8 ml dan distandarisasi Mc. Farland 0,5. Ekstrak kasar sample dibuat konsentrasi stok 5 mg/mL atau 5.000 ppm, MeOH 12,5% digunakan sebagai kontrol negative, kontrol positif dibuat dari sediaan tablet *Ciprofloxacin* 500 mg sebanyak 2 mg/mL. Media TSA diteteskan suspensi bakteri sebanyak 50 µL dan diratarakan menggunakan cotton bud, kemudian dipasang ring silinder dan dimasukan sampel yang akan diuji sebanyak 50 µL. Selanjutnya, media TSA yang sudah diberi sampel diinkubasi pada suhu 37℃ selama 18-20 jam dan diamati zona bening yang terbentuk. Pengujian aktivitas antibakteri dikatakan positif apabila di sekitar ring terdapat zona bening yang bebas pertumbuhan bakteri (Khusuma *et al*., 2019).

3.3.5. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak kasar (*crude*) seluruh isolat fungi yang telah diskrining, selanjutnya dilakukan pemisahan komponen senyawa melalui kromatografi lapis tipis menggunakan pelat silika gel F_{254} sebagai fase diam. Ekstrak kasar (*crude*) ditotolkan sedikit menggunakan pipa kapiler pada pelat dan dielusi dalam kondisi jenuh menggunakan beberapa eluen yaitu kombinasi dari n-Heksana dan Etil Asetat (EtOAc) dengan perbandingan tertentu yang telah dijenuhkan terlebih dahulu. Pelat divisualisasi di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm, selanjutnya dilakukan visualisasi lanjutan dengan menggunakan reagen serium sulfat untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel (ditandai dengan timbulnya noda coklat kehitaman), dan reagen *dragendorff* untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya noda oranye pada plat KLT.

3.3.6. Fraksinasi Kromatografi Kolom

Ekstrak kasar dengan hasil aktivitas antibakteri tertinggi selanjutnya di fraksinasi lebih lanjut dengan kolom kromatografi. Pada penelitian ini, fase diam yang digunakan berupa silika gel (SiO_2) yang dihidrasi menggunakan pelarut *n*-heksana. Elusi diawali dengan pelarut *n*-heksana 100%, n-heksana : etil asetat (9:1), *n*-Heksana : etil asetat (8:2), dan diakhiri dengan metanol. Cairan-cairan hasil pemisahan ditampung dalam fraksi- fraksi yang berbeda sesuai pemisahan yang terjadi. Hasil fraksinasi kemudian di KLT menggunakan eluen yang sesuai. fraksi yang memiliki nilai Rf yang sama dapat digabungkan. Selanjutnya dari masing-masing fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya terhadap *P.aeruginosa* untuk mengetahui fraksi yang aktif. Fraksi dengan aktivitas tertinggi dimurnikan hingga muncul satu *spot* pada KLT yang dielusi menggunakan beberapa variasi eluen. Senyawa murni yang telah diperoleh dapat dilanjutkan ke tahap karakterisasi senyawa.

3.3.7. Karakterisasi Senyawa

Sampel isolat unggul yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik terhadap *P.aeruginosa* dan memiliki kemurnian tertinggi, selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) di Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Kriminal POLRI, Bogor dan *Fourier Transform Infra Red Spectrometer* (FT-IR) di Laboratorium Kimia Analitik Institut Teknologi Bandung.

V. KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil peremajaan isolat fungi (21AD2-LR & 21DB2-LR) didapatkan bahwa kedua isolat tersebut terindikasi secara mikroskopis termasuk ke dalam genus *Aspergillus.*
2. Hasil skrining antibakteri menggunakan metode difusi *agar ring* menunjukkan ektrak kasar isolat 21AD2-LRKU yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *P. aeruginosa*, dan setelah dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom, didapatkan sampel 21AD2-LRKU3-3 memiliki aktivitas antibakeri yang kuat pada bakteri *P. aeruginosa.*
3. Hasil analisis LC-MS/MS sampel 21AD2-LRKU3-3 menunjukkan bahwa komponen alkaloid diketahui pada waktu retensi 18,14 dan m/z 697,4247 dengan perkiraan rumus molekul sebagai $C_{33}H_{52}N_{12}O_5$ dan berdasarkan database PubChem diketahui sebagai senyawa alkaloid dengan kerangka dasar imidazol.
4. Hasil analisis FT-IR diketahui serapan gugus C-N pada bilangan gelombang 1120,64 cm^{-1}, gugus N-H pada bilangan gelombang 1568,13 cm^{-1}, gugus C-C pada bilangan gelombang 1247,94 cm^{-1}, pada bilangan gelombang 3446,79 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus O-H, dan gugus C=O pada bilangan gelombang 1635,64 cm^{-1}. Hal tersebut mengkonfirmasi bahwa terdapat pola serapan yang cukup sesuai dengan gugus fungsi pada struktur senyawa bioaktif yang diperoleh.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang diperoleh bahwa isolat *aspergillus sp.* (21AD2-LRKU3-3) berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten. Penelitian dapat dilanjutkan dengan melakukan analisis struktur senyawa kristal 21AD2-LRKU3-3 menggunakan instrument NMR serta analisis filogenetik terhadap isolat fungi 21AD2-LR.

DAFTAR PUSTAKA

Ademiluyi, B. O., Oyeyemi, S. D., dan Obembe, O. M. 2016. " Nutritional Quality and Phytochemical Analysis of the Leave and Stem of Andrographis Paniculata (BURN.F) Grown in Ado-Ekiti, Nigeria ." *Bulletin of Pure & Applied Sciences- Botany* 35b. (1 & 2):1-7.

Alhaddad, Zakinah A., Wendy, A. T., dan Deddy, W. 2019. "Bioaktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia sp.*" *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology.* 12(1):12-26.

Amarullah, A., Adzani, F., Sampurno, B., dan Sa'adah, A. 2022. Edukasi Resistensi Antibiotik kepada Masyarakat di Desa Sedenganmijen Krian Sidoarjo *."Journal of community service."* 1(2):7-9.

Ameh, Alewo O., Muhammed, T. I., David, A., dan Alibaba, D. 2014. "Kinetic Modelling of the Demineralization of Shrimp Exoskeleton Using Citric Acid." *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*. 13(25):99-108.

Amriani, Yunita A., dan Juliana W.T. 2021. Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit pada Mangrove Sonneratia Alba dari Tanjung Carat Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 21(3):163-167.

Asfiyah dan Siti. 2020. "Modifikasi Deanstark Upaya Efisiensi Proses Distilasi Uap Minyak Biji Pala dalam Praktikum Kimia Organik." *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(1):10-21.

Azhar, M., Efendi, J., Erda, S., Rahmi, M. L., dan Novalina, S. 2010. "Pengaruh Konsentrasi NaOh dan KOH terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang". *Eksakta*. 1(9) : 1-8.

Cadamuro, Rafael D., Isabela M. A. S. B., Izabella T. S., Ariadne C. C. C., Diogo R., Louis P. S., Sergio A., Jose M. L., David R. L., Helen T., Mário S., dan Gislaine F. 2021. "Bioactive Compounds from Mangrove Endophytic Fungus and Their Uses For Microorganism Control." *Journal of Fungi*. 7(6):1-7.

Calabon, Mark S., Resurreccion B. Sadaba, dan Wilfredo L. C. 2019. "Fungal Diversity of Mangrove-Associated Sponges from New Washington, Aklan, Philippines." *Mycology.* 10(1):6-21.

Dompeipen, Edward J., Marni Kaimudin, dan Riardi P. Dewa. 2016. "Isolasi Kitin dan Kitosan dari Limbah Kulit Udang." *Majalah Biam*. 12(01):32-39.

Faizal, Ahmad, Nita M., Muh A. A., Amran S., Khairul A., dan Muh N. N. 2023. "Application of NDVI Transformation on Sentinel 2A Imagery for Mapping Mangrove Conditions in Makassar City." *Akuatikisle: Jurnal Akuakultur, Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil.* 7(1):59-66.

Faridah, Hayyun D., dan Silvi K. S. 2019. "Utilization of Microorganism on the Development of Halal Food Based on Biotechnology." *Journal of Halal Product and Research.* 2(1):33-45.

Fasya, Ahmad G., Ariska P. T., Fitroh A. M., Rachmawati N., dan Armeida D. R. M. 2018. "Variasi Diameter Kolom dan Rasio Sampel-Silika pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah Eucheuma cottonii dengan Kromatografi Kolom Basah." *Alchemy.* 6(2):57-65.

Firdayani, Fiya, dan Tri W. A. 2015. "Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksi dan Alami Spirulina Platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda." *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 18(1):28-37.

Ginting, Ledy, Wijanarka, dan Endang K. 2020. “Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L*.) dan Uji Aktivitas Enzim Amilase.” *Berkala Bioteknologi.* 3(2):1-7.

Giyanirfani, F. 2020. “Potensi Sitotoksik Ekstrak Etanol dan Tiga Fraksi dari Kulit Akar Mangrove Kedabu (Sonneratia Ovata) Terhadap Sel Kanker Mcf7”. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia.* 10(1):12-16.

Halidah. 2014. “Avicennia marina (Forssk.) Vierh Jenis Mangrove yang Kaya Manfaat.” *Info Teknis Eboni*. 11(1):37-44.

Handayani, Sri. 2018. “Identifikasi Jenis Tanaman Mangrove sebagai Bahan Pangan Alternatif di Kabupaten Sidoarjo Jawa Timur.” *Jurnal Teknologi Pangan.* 12(2):33-46.

Harmita, Kade, Yahdiana H., dan Supandi. 2019. "*Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)"*. 58(12):7250-7257.

Herison, A., Darmawan, A., Romdania, Y., & Puspaningrum, C. 2021. Analysis of Suitability of the Mangrove Ecotourism Area Pandan Alas Sriminosari Village Labuhan Maringgai East Lampung." *Advances in Engineering Research.* 202(19) : 64-68

Hermiyanty. 2016. “Deteksi Gen Resisten Ctx-M, Shv, Tem, Oxa-48 pada Isolat Klinis Bakteri *Escherichia Coli* dan Klebsiella Pneumoniae yang Tergolong Multiple Drug Resistant Organisms.” *Journal of Chemical Information and Modeling.* 53(9):89-99.

Hutapea, Erlin E., Ida M. 2021. “Perkembangan Resistensi Antibiotik Meropenem terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannnii,* Serta *Klebsiella pneumoniae* di Indonesia”. *Farmaka*. 18(1):53-59.

Indriani, C., Fadhila F. R., dan Kodariah L. 2020. “Identification of Aspergillus Sp Growth on White Bread Against Storage Temperature” *Jurnal Kesehatan Rajawali*. 10(2):92-103.

Irawan, erna. 2018. “Faktor-Faktor Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK).” *Prosiding Seminar Nasional dan Penelitian Kesehatan.* 1(1):13-16.

Ismail, B., and Nielsen, S. S. 2010. "Basic Principles of Chromatography. Springer Science & Bussiness Media, LLC". New York. 473-498.

Junaidi. 2018. “Mengenal Teori Kultivasi dalam Ilmu Komunikasi.” *Jurnal Simbolika.* 4(1):42-58.

Keifer, David Z., Elizabeth E. Pierson, dan Martin F. J.. 2017. “Charge detection mass spectrometry: Weighing heavier things.” *Journal of Analyst.* 5(2) : 1654-1671.

Khairunnisa, Cici, Eddy T., dan Hari P. 2020. “Keanekaragaman Jenis Vegetasi Mangrove di Desa Dusun Besar Kecamatan Pulau Maya Kabupaten Kayong Utara.” *Jurnal Hutan Lestari.* 8(2):25-36.

Khoddami, A., Meredith A. Wilkes, dan Thomas H. Roberts. 2013. “Techniques for analysis of plant phenolic compounds.” *Molecules.* 18(2):28-75.

Khusuma, A., Yuriska S., Annisa, Y., dan Kurnia, R. 2019. “Uji Teknik Difusi menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* sebagai Bakteri Uji.” *Jurnal Kesehatan Prima.* 13(2):151-177.

Kusmana, C. 2014. "Distribution and Current Status of Mangrove Forest in Indonesia". Review:Springer.

Kusumaningsih, T., Masykur, A., dan Usman, A. 2004. "Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (Achatina fulica)". *Biofarmasi*. 2(2):64-68

Mangurana, Wa Ode Intiyani, Yusnaini Yusnaini, dan Sahidin Sahidin. 2019. "Analisis LC-MS/MS (*Liquid Crhomatogaph Mass Spectrometry*) dan Metabolit Sekunder serta Potensi Antibakteri Ekstrak *n-Heksana* Spons Callyspongia Aerizusa yang diambil pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang yang Berbeda di Perairan Teluk Staring." *Jurnal Biologi Tropis.* 19(2):131-141.

Masniawati, A., Eva J., dan Winda W. 2021. "Analisis Fitokimia Umbi Talas Jepang *Colocasia esculentai L. (Schott) var. antiquorum* dan Talas Kimpul *Xanthosoma sagittifolium L*. (Schott) dari Dataran Rendah." *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan.* 12(2):7-14.

Mayasari, Evita. 2006. "*Pseudomonas aeruginosa* ; Karakteristik, Infeksi dan Penanganan." *Tessis*. Universitas Sumatera Utara Medan :1-16.

Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., dan Rahman, M. A. 2017. *"Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. In Membrane Characterization".* Universitas Teknologi Malaysia. Malaysia.

Mulatsari, Esti, Reise M., Sondang K., Shirly K., dan Fauzia N. O. 2023. "Edukasi Penggunaan Antibiotik secara Tepat sebagai Upaya Melindungi Masyarakat dari Bahaya Resistensi.". *Jurnal Pengabdian Masyarakat Indonesia.* 3(3):13-18.

Nandiyanto, Asep B. D., Rosi O., dan Risti R. 2019. "How to Read and Interpret FT-IR Spectroscope of Organic Material." *Indonesian Journal of Science & Technology*. 4(1) : 91-118

Onyena, Amarachi P., dan Kabari S. 2020. "A Review of the Threat of Oil Exploitation to Mangrove Ecosystem: Insights from Niger Delta, Nigeria." *Global Ecology and Conservation* 22:e00961.

Palanichamy, P. et al. 2018. "Bioactive Potential of Secondary Metabolites Derived from Medicinal Plant Endophytes". *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* 5(4):303-312.

Penesyan, Anahit, Ian T. Paulsen, Michael R. Gillings, Staffan Kjelleberg, dan Michael J. Manefield. 2020. "Secondary Effects of Antibiotics on Microbial Biofilms." *Frontiers in Microbiology.* 11(2):1-8.

Posangi, Jimmy, dan Robert A. Bara. 2014. "Analisis Aktivitas dari Jamur Endofit yang Terdapat dalam Tumbuhan Bakau Avicennia Marina di Tasik Ria Minahasa." *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis.* 2(1):30-62.

Praja, Ratih N., dan Aditya Y. 2018. "Isolasi dan Identifikasi Aspergillus Spp pada Paru-Paru Ayam Kampung yang dijual di Pasar Banyuwangi." *Jurnal Medik Veteriner*. 1(1):6-19.

Rachmadi, L. 2022. Karakterisasi Senyawa Bioaktif Mikroba Endofit yang Berasosiasi pada Tumbuhan Mangrove sebagai Antibiofilm terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Resisten. Skripsi. Univeristas Lampung.

Rahmah, Widya. 2021. "Potensi Tanaman Mangrove sebagai Agen Antikanker: Literature Review." *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia.* 10(1):12-16.

Rosamah, E. 2019. "Kromatografi Lapis Tipis Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu." *Review:Mulawarman University Press.* 5(2):40-51.

Ryu, M., Hwang, S., Kim, S., Yang, I., Oh, D., & Nam, S. 2019. Meroindenon and Merochlorins E and F, Antibacterial Meroterpenoids from a Marine- Derived Sediment Bacterium of the Genus Streptomyces. *Organic Letters*. 21(6):5779-5783.

Saragih, G. H., Tengku, R. H., Meutia, M., Chrismis, N. G., dan Edy, F. "Mikroba Endofit dalam Dunia Kesehatan". UNPRI Press. Medan.

Sesilia dan Jessica, A. S. 2023. “Isolasi, Identifikasi Dan Aktivitas Antibakteri dari Fungi Endofit Daun Miana terhadap Escherichia Coli dan Vibrio Cholerae.” *Media Farmasi.* 19(1):1-10.

Setiawan, A., Widyastuti, Arik I., Oklis, S. W., Aspita, L., Wawan, A., Ratna. J., Kenichi, N., Masayoshi, A., dan John, H. 2021. “Fermentation Shrimp Shell Waste in Solid State using Pseudonocardia Carboxydivorans 18a13o1 To Produce Bioactive Metabolites.” *Fermentation.* 7(4):1-10.

Singhania, Reeta, R., Anil, K. Patel., Carlos, R. Soccol., dan Ashok Pandey. 2009. “Recent Advances in Solid-State Fermentation.” *Biochemical Engineering Journal*.

Sinto, Robert. 2021. “Peran Penting Pengendalian Resistensi Antibiotik pada Pandemi COVID-19.” *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia.* 7(4):194-211.

Siwach, Ankit, dan Kumar V. 2021. “Sintesis dan Potensi Terapeutik Senyawa yang Mengandung Imidazol.” *Jurnal BMC.* 15(12):1-69.

Siwi, D. P. 2009. “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (Punica granatum L.) dan Tetrasiklin terhadap Pseudomonas aeruginosa Sensitif dan Multiresisten Antibiotik.” *Journal information.* 10(1):1-16.

Srivastava, Neha, Manish, S., Ramteke, P. W., dan Mishra, P. K. 2019. “Solid-State Fermentation Strategy for Microbial Metabolites Production: An overview.” *in New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Secondary Metabolites Biochemistry and Applications*.

Suresh, P. V., Sachindra, N. M., & Bhaskar, N. 2011. "Solid State Fermentation Production of Chitin Deacetylase by Colletotrichum Lindemuthianum ATCC56676 using Different Substrates". *Journal Food Science and Technology.* 48(2):349-356.

Suriaman, Edi, dan Wulandika, P. A. 2017. "Uji Mpn Coliform dan Identifikasi Fungi Patogen pada Air Kolam Renang di Kota Malang." *Jurnal SainHealth.* 1(1):15-23.

Surya, S. & Hari, N. 2017. "Leaf Anatomical Adaptation of Some True Mangrove Species in Kerala". *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2(3):11-14.

Susanti, dan Silvia, M. 2021. "Pengetahuan Masyarakat Mengenai Manfaat Tanaman Mangrove sebagai Obat Tradisional". *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.* 1(2):15-24.

Susanty, dan Fairus, B. 2016. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung." *Konversi.* 5(2):87-93.

Susilo, S., dan Rizkia, S. 2016. "Studies of Morphological and Secondary Metabolites Variaty of Mosses (Bryophyta) in Cibodas, West Java." *International Journal of Advanced Research.* 4(12):1397-1402.

Tan, R. X., and Zou, W. X. 2001. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites R. Journal Royal Society of Chemistry. 18:448-59.

Tejesvi, M. V., M. S. Nalini., B. Mahesh., H. S. Prakash., K. R. Kini., H. S. Shetty., dan Ven, Subbiah. 2007. "New Hopes from Endophytic Fungal Secondary Metabolites." *Bol. Soc. Quím. Méx.* 1(1):19-26.

Thomas, L., Larroche, C. and Pandey, A. (2013) 'Current Developments in Solid-State Fermentation', *Biochemical Engineering Journal*. 81 (2):146-161.

Toyofuku, M., Hiroo, U., dan Nobuhiko, N. 2012. "Social Behaviours Under Anaerobic Conditions in Pseudomonas aeruginosa." *International Journal of Microbiology.* 1(10):1-8.

Ulfah, M. 2020. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (Curcuma domestica) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli." *Jurnal FARMAKU (Farmasi Muhammadiyah Kuningan).* 5(1):25-31.

Utami, Riza D., Nur E. W., dan Budiyono, B. 2020. "Kemampuan Hidrogen Peroksida dan Formaldehid dalam Menurunkan Bakteri Pseudomonas aeruginosa pada Limbah Jarum Suntik di RS X Kota Semarang." *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia.* 19(1):2-9.

Waardenburg, E., Wouter L., Peter, V., Noya, A. 2023. "Restorasi Ekosistem Mangrove pada Media Biodegradable di Restoration of Mangrove Ecosystem on Biodegradable Media on." *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat.* 2(2):99-103.

Wahyuningsih, N., dan Enny, Z. 2019. "Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose." *Jurnal Sains dan Seni ITS.* 7(2):7-9.

Yudono, B., Sri, P. E., dan Munawar. 2014. "Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Termotolerant dari Sumur Tua (Abandon Well) di Babat Toman Musi Banyuasin Sumatera Selatan." *Jurnal Bioteknologi.* 12(2):195-204.