

**KARAKTERISASI SENYAWA LIPOPEPTIDA FUNGI SEDIMEN
MANGROVE serta UJI ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus* dan
*Pseudomonas aureginosa***

(Skripsi)

Oleh

Ibnu Fadilah

1917011041



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

KARAKTERISASI SENYAWA LIPOPEPTIDA FUNGI SEDIMEN *MANGROVE* serta UJI ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh

IBNU FADILAH

Dua bakteri resisten, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menjadi salah satu permasalahan secara global. Pada penelitian ini bertujuan mendapatkan senyawa antibiotik baru yang berasal dari fungi sedimen *mangrove*. Peremajaan fungi menggunakan media PDA. Isolat fungi diidentifikasi secara morfologi menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan dikultur di media beras padat. Skrining antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Isolat terpilih dikultur skala besar di media beras. Ekstrak EtOAc dipartisi kemudian diuji kembali aktivitas antibakterinya dengan modifikasi metode Bioautografi KLT *overlay* dengan penambahan resazurin. Fraksi unggul dikarakterisasi menggunakan FT-IR dan LC-MS/MS. Penelitian ini berhasil meremajakan 7 mikroba sedimen *mangrove*. Tiga isolat fungi *Penicillium* sp. Satu isolat *Aspergillus* sp. dan Tiga isolat belum diidentifikasi. Ekstrak isolat fungi 21RSM-12 memiliki aktivitas penghambat bakteri terhadap *S. aureus* dengan persentase 70,2%, dikonfirmasi ekstrak fraksi *n*-Heksana dan subfraksi keempat hasil fraksinasi menunjukkan adanya *spot* aktif berwarna biru pada uji bioautografi KLT. Karakterisasi FT-IR menunjukkan gugus khas peptida pada daerah bilangan gelombang 3404 cm^{-1} , 1722 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} dan 1056 cm^{-1} dengan gugus fungsi meliputi O-H, C=O, C=O (amida) dan beberapa ikatan C-O. Analisis LC-MS/MS menggunakan *software SIRIUS* diperoleh senyawa turunan lipopentapeptida linear dengan formula molekul $\text{C}_{46}\text{H}_{80}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}$ pada nilai m/z 905,5952. Dampak penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru dalam investigasi senyawa bahan alam yang dapat digunakan sebagai tahap awal penemuan obat farmasi.

Kata Kunci: Sedimen *Mangrove*, Fungi, Antibakteri, LC-MS/MS. Peptida

ABSTRACT

CHARACTERIZATION LIPOPEPTIDE COMPOUND BY FUNGI OF SEDIMENT MANGROVE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa*

By

IBNU FADILAH

Two resistance bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is a serious global problem . This study aims to obtain new antibiotic compounds derived from sediment mangrove fungi. Rejuvenation of fungi using PDA agar. Fungal isolates were carried out for morphological identification using a light microscope with 400x magnification and cultured on solid rice media. Antibacterial screening was carried out using the microdilution method. A potential isolate was cultured on a large scale in rice media. EtOAc extract was partitioned and assaying antibacterial activity using a modification of the TLC overlay Bioautography method with 0.3% resazurin. Superior fraction extract was fractionated by clean-up and characterized by FT-IR and LC-MS/MS. This study rejuvenating 7 microbes of sediment *mangrove*. Three isolates fungi *Penicillium* sp. A isolate fungi *Aspergillus* sp. and three isolates unidentified. extract by 21RSM-12 fungi isolate demonstrates bacterial growth inhibition against *S. aureus* with inhibition percentage of 70,2%. Extract of n-Hexane fraction and fourth subfraction from fractionation presence of blue active spots in the TLC bioautography test. FT-IR analysis showed peptide group with wavenumber 3404 cm^{-1} , 1722 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} and 1056 cm^{-1} which indicated O-H, C=O(ester), C=O(amide) groups dan C-O bonding. Implementation of *SIRIUS* in LC-MS/MS analysis obtained linear lipopentapeptide derivative compound molecular formula $\text{C}_{46}\text{H}_{80}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}$ with m/z 905.5952. The impact of this research to provide new information in the investigation of natural product compound as an one stage of pharmaceutical drug discovery.

Keywords: Sediment Mangrove, Fungi, Antibacterial, LC-MS/MS, Peptide

**KARAKTERISASI SENYAWA LIPOPEPTIDA FUNGI SEDIMEN
MANGROVE serta UJI ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus* dan
*Pseudomonas aureginosa***

Oleh
Ibnu Fadilah

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
2025**

Judul Penelitian : **Karakterisasi Senyawa Lipopeptida Fungi
Sedimen *Mangrove* serta Uji Antibakteri
terhadap *Staphylococcus aureus* dan
*Pseudomonas aereginosa***

Nama Mahasiswa : **Ibnu Fadilah**

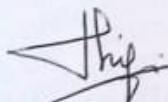
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011041

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

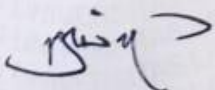


1. Komisi Pembimbing


Syaiful Bahri, M.Si.
NIP. 197308252000031001


Prof. Andi Setiawan, Ph.D.
NIP. 1958092219881110001

2. Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama

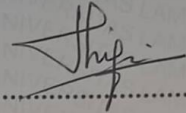

Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

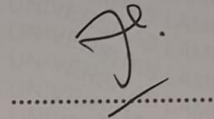
Ketua

: Syaiful Bahri, M. Si.



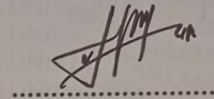
Sekretaris

: Prof. Andi Setiawan, Ph. D.

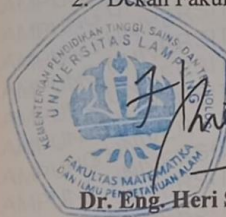


Penguji Bukan
Pembimbing

: Dr. Nurhasanah, M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M.Si

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 30-April-2025

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ibnu Fadilah
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011041
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya dengan judul **"Karakterisasi Senyawa Lipopeptida Fungi Sedimen Mangrove serta Uji Antibakteri terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas aureginosa*"** adalah benar hasil karya sendiri, baik ide, hasil maupun analisisnya. Selanjutnya saya tidak keberatan jika sebagian atau keseluruhan data di dalam skripsi digunakan oleh dosen atau program studi dalam kepentingan publikasi atas persetujuan penulis dan sepanjang nama saya disebutkan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 20 Mei- 2025

Yang Menyatakan,



Ibnu Fadilah

NPM. 1917011041

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Ibnu Fadilah, lahir di Tulang Bawang, 24 Desember 2000. Penulis merupakan putra dari pasangan Bapak Indrani dan Ibu Ani Cholilah. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Riwayat pendidikan yang telah ditempuh di TK 02 Yapindo, SDS 02 Yapindo, SMPS Yapindo, dan Sekolah Menengah Atas di SMAS *Sugar Group Companies*. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2019.

Penulis mengikuti salah satu organisasi selama di perguruan tinggi yaitu himpunan mahasiswa jurusan kimia (HIMAKI) kepengurusan tahun 2019 sebagai pengurus muda hingga kepengurusan sebagai pengurus inti tahun 2020, selama kepengurusan penulis aktif mengikuti kegiatan serta pelatihan yang diadakan himpunan baik tingkat jurusan hingga tingkat nasional dan berperan baik pengurus muda hingga pengurus inti sebagai anggota Biro Penerbitan.

Pada tahun 2022, penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Agung Jaya, Kecamatan Banjar Margo, Kabupaten Tulang Bawang. Penulis menyelesaikan Praktek Kerja Lapangan yang bertempat di UPT-LTSIT Universitas Lampung dengan judul “Skrining Bioaktivitas Antibakteri Fungi Sedimen *Mangrove* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*” dan dilanjutkan hingga ke penelitian tugas akhir atau skripsi. Penulis menyelesaikan penelitian tugas akhir dengan judul “Karakterisasi Senyawa Lipopeptida Fungi Sedimen Mangrove serta Uji Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aureginosa*” di UPT-LTSIT Universitas Lampung.

MOTTO

“Selalu bersyukur dan berusaha untuk mendapatkan sesuatu, Selalu berbagi ilmu dan bersedekah untuk mendapatkan keberkahan”

(Penulis)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan; Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(QS Al-Insyirah: 5-6)

“Keberhasilan bukanlah milik orang yang pintar, Keberhasilan adalah milik mereka yang senantiasa berusaha dalam melakukan sesuatu”

(B.J. Habibie)

“Penelitian harus *enjoy*, dalam melakukan sesuatu jangan terlalu meremehkan jika segalanya kalian bisa dan jangan berkecil hati jika adanya kegagalan, energi yang kalian habiskan berbanding lurus sama hasil yang bakal di capai”

(Anonim)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah *Subhanallah wa ta'ala* Yang Maha Pengasih lagi
Maha Penyayang

Dengan mengucap *Alhamdulillahilahi robbil 'aalaamiin* atas ridho Allah dengan
segala rasa syukur kupersembahkan karya kecil ini kepada:

Keluargaku tercinta

Bapak, Ibu, dan Adik yang selalu mendoakan, mendukung, dan percaya dengan
anaknya.

Dengan rasa hormat kepada:

**Bapak Syaiful Bahri, M.Si., Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph. D.,
Ibu Dr. Nurhasanah, M. Si., dan Bapak Prof. Dr. Hardoko Insan Qudus, M.
S.,** serta seluruh dosen Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan ilmu,
bimbingan dan arahan serta nasihatnya sehingga penulis mendapatkan gelar
sarjana.

Teman-temanku dan semua orang baik yang telah mendoakan dan mendukung

Almamater Universitas Lampung.

Dan untuk diriku sendiri yang telah bersyukur dan semangat dalam berusaha.

SANWACANA

Puji dan syukur hanyalah milik Allah *Subhanallahu wa ta'ala* yang telah memberikan nikmat, berkah dan karunia-Nya. Ucapan *Sholawat* serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad *Shallahu 'alaihi wa sallam*, semoga kita diberikan *istiqomah* dalam menjalankan perintah serta sunnah-sunnahnya di hari akhir kelak, *aamiin ya rabbal'aalamiin*. Skripsi dengan judul **“KARAKTERISASI SENYAWA LIPOPEPTIDA FUNGI SEDIMEN MANGROVE serta UJI ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aureginosa*”** ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah *subhanallahu wa ta'ala* atas nikmat , pemberi petunjuk dan karunia-Nya sehingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi.
2. Orang tua saya yang selalu mendukung, memberikan semangat serta mendoakan penulis dalam melaksanakan kegiatan perkuliahan dan menyelesaikan penelitian hingga selesai.
3. Bapak Syaiful Bahri, S. Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing 1, yang telah membimbing, mendidik, mengarahkan dengan sabar sehingga penulis mendapat banyak pelajaran baru selama menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan banyak nasehat pelajaran hidup yang berharga dan memberikan arahan selama penelitian sehingga penulis menyelesaikan penelitian skripsi ini.
5. Ibu Dr. Nurhasanah M.Si., selaku Dosen Pembahas, yang telah memberikan banyak masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.

6. Bapak Prof. Dr. Hardoko Insan Qudus, M. S., selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang selalu memberikan pelajaran hidup dalam mendukung proses penelitian ini
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan motivasi dan wawasan selama perkuliahan berlangsung dan juga menyetujui skripsi ini.
8. Kak Fendi Setiawan, M.Si., Rosyidatul Lutfiah, M.Si., dan Kak Ridho Nahrowi, M.Si., atas memberikan dukungan, saran, bimbingan, dan pembelajaran selama penelitian di Laboratorium.
9. Nina, Azzahra, Naurah, dan Rere adik angkatan 2021, Nabillah *twins* “Nabillah Attohiroh Tsari dan Nabillah Putri Ananda”serta Zahra Salsabila adik angkatan 2022 dari “Syaiful Bahri *Research*”di UPT-LTSIT yang selalu menjadi harapan dan doa kepada penulis semoga penelitiannya berjalan dengan lancar dan selesai tepat waktu.
10. Teman angkatan 2020 dan 2021 yang berada di (UPT-LTSIT) terutama bagian dari “Andi Setiawan *Research*, John Hendri *Research*, dan Ni Luh *Research*” yang tidak dapat disebutkan namanya telah memberikan bantuan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan dan laporan penelitian.

Penulis menyadari bahwa laporan ini tidak sepenuhnya benar dan tidak terlepas dari kekurangan, dengan kekurangan tersebut dengan sangat dibutuhkan adanya kritik dan masukan dari semua pihak demi kesempurnaan laporan ini. Terima kasih.

Bandar Lampung, 30 April 2025

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	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 Sedimen Mangrove	4
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Peptida Fungi	5
2.4 Kultivasi	6
2.5 Ekstraksi.....	7
2.5.1 Maserasi.....	8
2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	8
2.7 Bakteri	9
2.7.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.7.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.8 Metode Uji Antibakteri	12
2.9 Karakterisasi Senyawa	13
2.9.1 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)</i>	13
2.9.3 <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry-Mass Spectrometry (LC-MS/MS)</i>	14
III. METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.3 Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1 Pembuatan Media PDA dan PDB	17
3.3.2 Biomaterial dan Identifikasi Mikroskopis Isolat.....	17
3.3.3 Peremajaan Isolat	18
3.3.4 Kultivasi	18
3.3.5 Ekstraksi dan Analisis KLT Ekstrak EtOAc Isolat Fungi ..	19
3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri	19
3.3.7 Produksi dan Pemisahan Ekstrak EtOAc Fungi (<i>Scale Up</i>)	21

3.3.7.1	Kultivasi dan Ekstraksi Skala Besar Ekstrak Fungi	21
3.3.7.2	Pemisahan Ekstrak EtOAc Fungi (<i>Scale up</i>)	21
3.3.8	Karakterisasi Senyawa Aktif	22
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1	Identifikasi Isolat Fungi Sedimen <i>Mangrove</i>	23
4.2	Identifikasi Mikroskopis Isolat Fungi	25
4.3	Kultivasi dan Ekstraksi	26
4.5	Analisa Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	27
4.6	Skrining Bioaktivitas Antibakteri	29
4.7	Kultur dan Skrining Antibakteri Isolat Ekstrak 21RSM-12.....	32
4.8	Partisi dan <i>Monitoring</i> Aktivitas 21RSM-12 (<i>Scale Up</i>).....	33
4.9.	Pemisahan secara <i>Clean-up</i> Fraksi Heksana RSM12(S)	33
4.10.	Karakterisasi Senyawa Fraksi Isolat RSM12	35
4.10.1	Karakterisasi menggunakan <i>Fourier Transform Infrared Spectrometry</i> (FT-IR)	35
4.10.2	Karakterisasi menggunakan <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry-Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS).....	36
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1	Simpulan	42
5.2	Saran.....	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Pentadekaibin (Bohemen <i>et al.</i> , 2021).....	6
2. Struktur Sklerotida B (Zheng <i>et al.</i> , 2009).	6
3. Membran Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	10
4. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (Joshi <i>et al.</i> , 2014).	11
5. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Mahmud <i>et al.</i> , 2016).....	11
6. Metabolisme sel bakteri dalam mereduksi resazurin menjadi resorufin.....	13
7. Fragmentasi Senyawa Peptida Siklik, (a) Pola Fragmentasi Asam Amino secara <i>De-Novo</i> (b) Prediksi Struktur Peptida (Jiang <i>et al.</i> , 2021).	15
8. Penampakan morfologi fungi.....	25
9. Pertumbuhan fungi.....	26
10. Analisis KLT Ekstrak Etil Fungi 21RSM(06-12)	29
11. Persentase hambat ekstrak EtOAc Fungi RSM6-12 terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i>	31
12. KLT dan hasil uji ekstrak EtOAc awal dan <i>scale up</i> 21RSM-12	32
13. KLT dan hasil uji 21RSM-12(S) fraksi MeOH dan Heksana.....	33
14. Proses Pemisahan <i>clean-up</i> menggunakan kromatografi kolom kecil.....	34
15. Hasil KLT 5 fraksi gabungan RSM12 (a) UV λ 254 nm,	34
16. Spektrum IR Fraksi Keempat 21RSM-12	35
17. Kromatogram LC-MS/MS fraksi keempat 21RSM-12(S).....	37
18. Hasil KLT Fraksi Keempat 21RSM-12 dengan eluen DCM 100%	38
19. Hasil KLT dan Uji Antibakteri Fraksi Aktif 21RSM-12 dengan eluen DCM:MeOH (2:1) (a) UV λ 254 nm; (b) Serium Sulfat; (c) Ninhidrin; (d) Vanilin-Sulfat; (e) <i>Dragendorff</i> ; (f) Uji Antibakteri Bioautografi.....	38
20. Spektrum massa fraksi 21RSM-12 pada waktu retensi 16.32 menit	39
21. Senyawa aktif dengan formula $C_{53}H_{94}N_7O_{13}S$ (a) Struktur lipopeptida (b) Posisi fragmen ion khas berbagai asam amino.....	40
22. Diagram Alir Penelitian	56
23. Pola Fragmentasi Senyawa Molekul $C_{46}H_{80}N_8O_8S$	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat tunggal fungi sedimen mangrove	23
2. Klasifikasi genus isolat fungi sedimen mangrove	25
3. Nilai Inhibisi Pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	30
4. Nilai Inhibisi Hambat Pertumbuhan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
5. Analisa Puncak FT-IR Fraksi 21RSM-12.....	35
6. Berat Ekstrak Kasar EtOAc Isolat 21RSM06-12.....	57
7. Hasil Analisis Senyawa 21RSM-12 menggunakan <i>SIRIUS</i>	57
8. Nilai Rf Ekstrak EtOAc Hasil Kultivasi Tujuh Isolat pada Media Beras	60
9. Nilai Rf Ekstrak Fungi (<i>Dragendorff</i> ,Vanilin- Sulfat,dan Ninhidrin)	60

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Resistensi antibiotik secara global menjadi salah satu masalah kesehatan yang harus diatasi, sebanyak 2,8 juta orang setiap tahunnya mengalami infeksi yang diakibatkan adanya pengaruh resistensi bakteri terhadap antibiotik dan terjadi peningkatan setiap tahunnya hingga pada tahun 2050 dengan kasus mortalitas melebihi angka kasus kanker (Salam *et al.*, 2023; CDC, 2022). Laporan data statistik *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) periode pertengahan 2019 hingga tahun 2020 didunia tercatat sebanyak 279 ribu kasus *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan 28 ribu kasus *Multidrug-resistant* (MDR) yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (CDC, 2022). *World Health Organization* (WHO) memasukkan kedua bakteri resisten dalam klasifikasi 6 jenis bakteri klinis resisten terhadap antibiotik global dengan istilah *ESKAPE* yang meliputi *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter species*. (Oliveira *et al.*, 2020; WHO, 2017).

Penggunaan dosis antibiotik yang tidak tepat menyebabkan beberapa bakteri terutama bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* beradaptasi memperlemah efektivitas antibiotik tersebut (Rollando, 2019). Salah satu upaya peneliti dalam menekan efek perubahan aktivitas resistensi dari bakteri, dengan menemukan senyawa antibiotik baru yang berasal dari eksplorasi mikroba ekosistem laut, salah satunya fungi yang berasosiasi dengan eksositem *mangrove*. Fungi yang berasal dari endofit *mangrove* menghasilkan senyawa yang berbeda dengan senyawa bioaktif yang berasosiasi sedimen *mangrove*. Studi penelitian Yin *et al.*,(2023) mengisolasi fungi endofit *Trichoderma* berasosiasi dengan daun inang tumbuhan

mangrove Bruguiera gymnorhiza. Fungi tersebut menghasilkan senyawa poliketida dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bahri *et al.*, (2024) melaporkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat fungi endofit *Fusarium equiseti* 20CB07RF, berasosiasi batang mangrove terhadap inhibisi *Pseudomonas aeruginosa* resisten. Beberapa kajian penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri fungi endofit *mangrove* terhadap bakteri resisten, namun perkembangan penelitian senyawa bioaktif fungi berasosiasi sedimen *mangrove* terhadap bakteri resisten masih terbatas.

Fungi yang terdapat pada ekosistem *mangrove* memiliki peran penting dalam keberlangsungan hidup mikroorganisme, diketahui habitat yang cocok bagi fungi terdapat pada sedimen *mangrove* (Vidya *et al.*, 2022). Fungi yang diisolasi dari sedimen *mangrove* menghasilkan berbagai senyawa metabolit meliputi poliketida, alkaloid, terpenoid, steroid, dan polipeptida (Cai *et al.*, 2021) yang memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan serta aktivitas sitotoksik (Gao *et al.*, 2021). Faktor lingkungan serta nutrisi mempengaruhi fungi dalam menghasilkan senyawa antibiotik baru, untuk menghasilkan senyawa bioaktif dilakukan pendekatan kultur media padat yang berbeda berbasis metode SSF (*Solid State Fermentation*) (Romano *et al.*, 2018). Salah satu media padat yang akan digunakan adalah produk beras hancur/*broken rice* yang berasal dari sisa hasil industri penggilingan padi dipandang tidak ada nilainya dapat digunakan sebagai media fermentasi fungi SSF (Razak *et al.*, 2019). Penelitian Song *et al.*, (2021) melaporkan bahwa media beras dapat dijadikan sebagai sumber media fermentasi bagi fungi.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk memperoleh senyawa metabolit yang dihasilkan fungi sedimen *mangrove* pada media kultur beras secara SSF. Ekstrak fungi akan diuji skrining bioaktivitas serta dikarakterisasi senyawa yang berpotensi aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi makro dan mikroskopis isolat fungi yang berasosiasi dengan sedimen *mangrove*.
2. Mengetahui bioaktivitas antibakteri dari isolat fungi dalam kultur media beras menggunakan metode mikrodilusi cair dan bioautografi KLT *overlay agar* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Mengidentifikasi senyawa bioaktif dari ekstrak fungi sedimen *mangrove* menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (FT-IR) dan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu memberikan informasi adanya potensi bioaktivitas isolat aktif fungi sedimen *mangrove* yang berasal dari kawasan pantai Pesawaran sebagai antibakteri terhadap bakteri klinis *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekosistem *Mangrove*

Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (2021) melaporkan luas total *mangrove* yang terdapat di Indonesia sekitar 3,3 juta hektar. Luasan *mangrove* yang berada di pesisir Pulau Sumatera menjadi luasan *mangrove* terbesar ketiga di Indonesia dengan persentase 19,7% dari total luas hutan *mangrove* yang ada. Adapun luasan hutan *mangrove* terdapat di Provinsi Lampung sekitar 10.533,676 hektar (Djamaluddin, 2018). Karakteristik dari hutan *mangrove* yaitu tumbuh di tanah berlumpur, berlempung, dan berpasir, serta berinteraksi dengan pasang surutnya air laut. (Ancheeva *et al.*, 2018), terbentuknya vegetasi *mangrove* dipengaruhi peran mikroorganisme dalam menguraikan serasah daun *mangrove* (Ashari dkk, 2021). Serasah tanaman dan jasad hewani mengalami proses pembusukan bercampur dengan sedimen (Daulat *et al.*, 2014). Faktor suhu, pH air, cahaya matahari, salinitas, dan ketersediaan zat hara serta oksidasi juga mempercepat proses dekomposisi ditambah peran mikroorganisme dan sedimen dalam mengubah serasah menjadi makronutrisi seperti nitrogen (N), fosfor (P), dan karbon (C) (Indrawati *et al.*, 2013; Hawari dkk., 2013).

2.2 Fungi Sedimen *Mangrove*

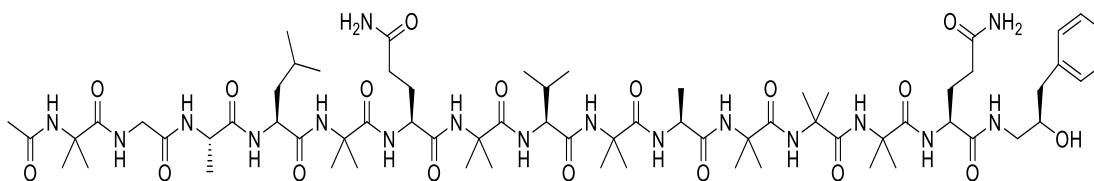
Ekosistem hutan *mangrove* memiliki peran habitat yang kompleks dengan kebutuhan serta proteksi bagi berbagai mikroorganisme. Persebaran mikroba yang ada sebagian besar terdapat pada fungi dan bakteri dan beberapa mikroba lainnya seperti alga dan protozoa (Thatoi *et al.*, 2013). Sebaran spesies fungi laut yang ada didapat 1.857 spesies, 769 genus, 226 famili, 88 ordo, 22 kelas dan 7 filum. 90% keberagaman dari total spesies fungi endofit laut yang ada, sebagian besar dari kelompok filum fungi

Ascomycota dan *Basidiomycota* (Goncalves *et al.*, 2022). Pada penelitian (Thamizhmani *et al.*, 2012) berhasil mengisolasi 38 spesies sampel isolat berasal dari sedimen *mangrove* di Pesisir Timur India meliputi kelompok genus *Penicillium* dan *Alternaria* (7 spesies), *Aspergillus* (17 spesies), *Cladosporium* (9 spesies), *Mucor*, *Rhizopus*, dan *Fusarium*.

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Peptida Fungi

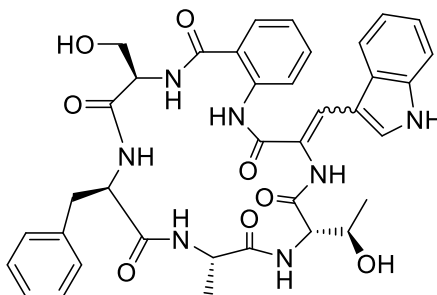
Peptida adalah salah satu kelompok metabolit sekunder yang terbentuk dari 2-18 jenis asam amino yang terikat pada suatu ikatan peptida. Senyawa peptida ditemukan pada isolasi tanaman, spons, alga, serangga, dan sebagian besar mikroorganisme meliputi bakteri, *actinomycetes*, dan fungi. Fungi menghasilkan sekitar 293 macam senyawa peptida telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas sebagai antikanker, antimikroba dan sebagai antiviral (Wang *et al.*, 2017; Zorzi *et al.*, 2017). Ghoran *et al.*, (2023) melaporkan beberapa literatur bahwa sekitar 366 senyawa peptida yang dihasilkan oleh fungi laut dengan karakteristik strukturnya yaitu secara linear dan siklik, pada tahun 1991 hingga pertengahan 2023 diketahui bahwa senyawa peptida berasal dari fungi laut memiliki aktivitas sebagai antifungi, antiviral, antiinflamasi dengan persentase sekitar 7%-10%, antibakteri (20%) dan aktivitas sitotoksik sebesar (32%).

Penelitian Bohemen *et al.*, (2021) melaporkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari suatu senyawa peptida linear Pentadekaibin I yang dapat terlihat pada **Gambar 1**, senyawa tersebut memiliki susunan 15 jenis residu asam amino yang dihasilkan oleh fungi *Trichoderma sp.* berasosiasi dengan sedimen laut, didukung beberapa literatur bahwa fungi menghasilkan senyawa peptida dengan bentuk struktur yang khas.



Gambar 1. Struktur Pentadekaibin (Bohemen *et al.*, 2021).

Studi penelitian Zheng *et al.*, (2009) mengonfirmasi adanya senyawa Sklerotida B pada **Gambar 2.** merupakan suatu peptida berbentuk siklik heksapeptida yang dihasilkan oleh fungi laut *Aspergillus sclerotiorum* dengan adanya aktivitas antifungi terhadap fungi patogen *Candida albicans*, antibakteri terhadap bakteri *Gram* negatif *Pseudomonas aeruginoa*, dan aktivitas sitotoksik.



Gambar 2. Struktur Sklerotida B (Zheng *et al.*, 2009).

2.4 Kultivasi

Kultivasi menjadi salah satu langkah penting dalam memproses secara biosintesis suatu isolat mikroba menghasilkan potensial senyawa alami melalui pendekatan bioteknologi (Sekurova *et al.*, 2019). Faktor pH, suhu, serta daya adaptasi dalam media yang berbeda suatu mikroba salah satunya fungi mempengaruhi dalam pertumbuhan sel dan proses sporulasi (Mustafa *et al.*, 2023) dalam absorpsi nutrisi sehingga mempresentasikan senyawa bioaktif yang unik sebagai pertahanan dirinya.

Kultivasi yang umum dilakukan yaitu metode *Solid State Fermentation* (SSF). Metode SSF menggunakan suatu media padat sebagai medium mikroba dengan tingkat kadar air/kelembaban berkisar 30-85%. Pengaruh kadar air yang cukup sangat

penting dalam fungi mencerna makanan pada media dengan menembus kultur media melalui miselianya (Srivastava *et al.*, 2019; Balkan and Ertan., 2007). Beberapa fungi berfilamen dapat beradaptasi media SSF untuk menghasilkan senyawa antibiotik yaitu *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* (Ramadan *et al.*, 2024; Hu *et al.*, 2012). Metode kultur secara SSF memiliki keunggulan yaitu mudah digunakan, murah dengan memanfaatkan limbah sebagai kultur media, konsumsi energi yang rendah serta tingkat kontaminasi mikroba dari luar yang minim. (Mattedi *et al.*, 2023; Jiménez *et al.*, 2017). Metode SSF yang umum digunakan adalah media padat beras. Beras mengandung 75-80% karbohidrat meliputi glukosa, sukrosa, dekstrin dan pati (amilosa dan amilopektin), 12% air dan 7% protein (Ravikumar *et al.*, 2022). Sumber karbon yang berasal dari karbohidrat pada beras menjadikan suatu komponen terpenting dalam pembentukan dinding sel fungi.

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode separatif serta filtrasi zat senyawa bioaktif dari mikroba laut dengan menambahkan suatu pelarut dengan perbedaan kepolaran dengan prinsip *like dissolve like* pada kedua larutan membentuk dua komponen yang berbeda. Pelarut semi polar yang umum digunakan salah satunya EtOAc. Pelarut EtOAc memiliki sifat semi polar yang dapat menarik suatu senyawa sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, dan steroid yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Kuswandani dkk, 2019). Salah satu metode ekstraksi yang digunakan dalam mengisolasi senyawa bioaktif pada mikroba maupun bahan alam adalah metode maserasi.

2.5.1 Maserasi

Prinsip maserasi dengan memasukkan suatu pelarut tertentu, sehingga mikroba maupun bahan alam yang akan diekstraksi ke dalam suatu wadah tertutup rapat dengan temperatur suhu kamar diberi perlakuan kondisi waktu selama 24 jam, agar senyawa bioaktif yang terdapat pada sel mikroba tertarik secara sempurna pada pelarut dengan kepolaran larutan yang sama. Adapun metode maserasi memiliki keunggulan yaitu menghindari terjadinya kerusakan senyawa bioaktif yang bersifat termolabil (Badaring dkk, 2020).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode pemisahan berbagai komponen senyawa. Pemisahan kromatografi terjadi dengan menggunakan dua fase. Fase pertama adalah fase gerak meliputi pelarut satu atau berbagai campuran pelarut dengan tingkat kepolaran untuk menarik senyawa tertentu sampai batas elusi. Fase kedua yaitu fase diam yang umum digunakan adalah plat silika sebagai mengikat berbagai senyawa tertentu dalam proses pemisahan (Oktaviantari dkk, 2019). Keunggulan dari kromatografi lapis tipis adalah sederhana dalam penggunaan, murah, dan dapat mendeteksi komponen senyawa, baik dalam sampel murni maupun campuran. Hal ini ditandai dengan mengamati berbagai perubahan bercak/spot (Rosamah, 2019),

Hasil yang didapat dari kromatografi lapis tipis berupa bercak (*spot*) dengan rentang jarak *spot* yang berbeda-beda, *spot* noda yang terpisah dapat dideteksi menggunakan visualisasi di bawah sinar UV λ 254 nm untuk mendeteksi awal keberadaan berbagai *spot* komponen senyawa C rangkap konjugasi. Selain itu penambahan pereaksi identifikasi senyawa spesifik masing-masing noda/spot yang akan dideteksi meliputi Serium Sulfat, *Dragendorff*, Ninhidrin, dan Vanilin-Sulfat dalam penelitian ini sehingga, dapat diperoleh dalam menentukan nilai R_f (*factor retention*/faktor

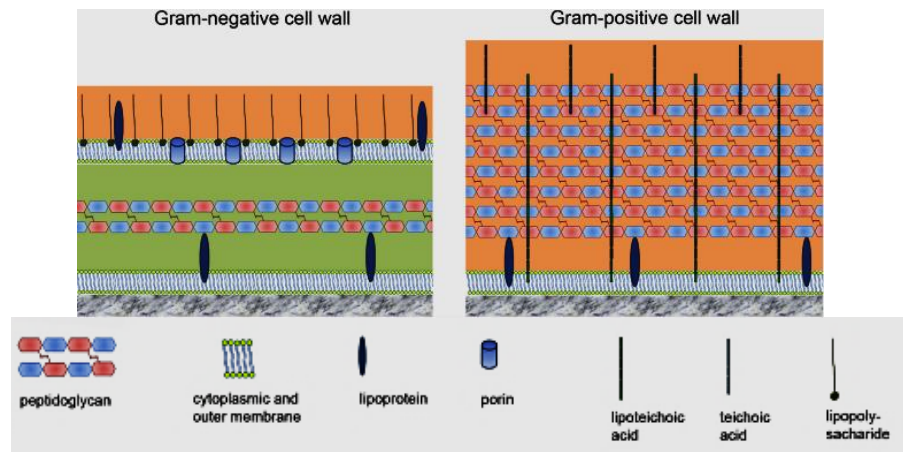
perlambatan). Nilai R_f menunjukkan adanya interaksi migrasi antara fase gerak (eluen) dengan komponen senyawa yang akan diidentifikasi dari sampel murni maupun campuran. Penentuan nilai R_f digunakan sebagai informasi adanya pergerakan suatu senyawa yang dituju dalam suatu sampel (Rohman, 2020). Rumus perhitungan nilai R_f sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

2.7 Bakteri

Bakteri merupakan jenis mikroorganisme yang hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop cahaya/elektron, dan bersel tunggal (uniseluler). Bakteri juga termasuk dalam kelompok besar Prokariota. Struktur penyusun sel bakteri terdiri dari dinding sel, membran sel, ribosom, sitoplasma, plasmid, dan inti sel (prokariota terdiri atas benang kromatin DNA dan RNA) (Wahyuni dan Ramadhani, 2020).

Gambar 3. menunjukkan bahwa bakteri terbagi menjadi dua jenis berdasarkan struktur peptidoglikannya, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan tebal (ukuran ± 80 nanometer) di luar permukaan membran plasma yang terikat oleh asam *lipoteichoic* dan asam teikoat, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis dengan ketebalan sekitar 8 nm diantara membran plasma dan ditutupi oleh lapisan membran lipoposakarida dengan tebal sekitar 1-3 μm dan diantara jalur porin (Babayevska *et al.*, 2022), jika diuji menggunakan indikator *crystal violet* pada bakteri Gram positif akan menimbulkan warna yang sama dengan pereaksi sedangkan pada bakteri Gram negatif tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan *crystal violet*, (Wahyuni dan Ramadhani, 2020).



Gambar 3. Membran Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (Rohde, 2019).

2.7.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri jenis *Gram* positif berbentuk bulat dengan berkoloni membentuk seperti anggur yang dapat dilihat pada **Gambar 4**. dengan ukuran diameter berkisar 0.5.-1.5 μm dengan memperoleh energi secara anaerob fakultatif. Bakteri tersebut dapat tumbuh pada suhu optimal berkisar 18-40°C (Rasheed *et al.*, 2021). Bakteri *S. aureus* menimbulkan berbagai penyakit/infeksi berat seperti pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan salah satu bakteri penyumbang utama infeksi nosokomial (Sinarsih dkk, 2021).

Mekanisme bakteri *Staphylococcus aureus* melakukan mutasi pada *Penicillin Binding Protein* (PBP2a) dengan melakukan perubahan jalur porin yang merupakan jalur masuk keluar dinding sel, sehingga terganggunya jalan molekul antibiotik masuk ke targetnya sehingga terhambatnya aktivitas PBP (Lowy *et al.*, 2003), ditandai dengan aktivitas bakteri mengubah struktur situs aktif sehingga efektivitas antibiotik menjadi berkurang atau hilang, akibat dari resisten ini,



Gambar 4. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Joshi *et al.*, 2014).

2.7.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri jenis *Gram* negatif berbentuk *coccus* dengan ukuran dengan panjang 1-5 μ m dan lebar 0,5-1,0 μ m. Bakteri tersebut dapat hidup dan tumbuh dengan baik pada media yang kaya akan sumber karbon pada suhu 37°C dan dapat bertahan pada suhu yang tinggi mencapai suhu 42°C (Diggle and Whiteley, 2020).



Gambar 5. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Mahmud *et al.*, 2016).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan dalam inaktivasi pengaruh antibiotik. Enzim β laktamase yang dihasilkan dari bakteri ini berinteraksi secara gugus fungsi dengan antibiotik mengakibatkan terhidrolisis ikatan amida sehingga tingkat sensitivitas obat menjadi rendah. (Steinbuch and Friedman, 2016).

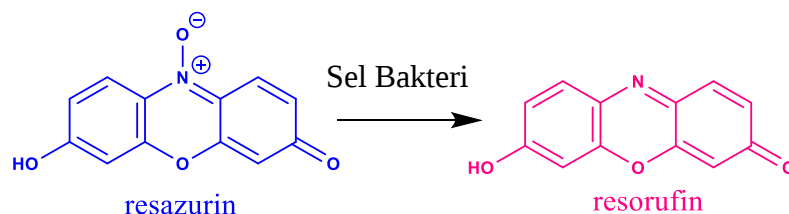
2.8 Metode Uji Antibakteri

Skrining antibakteri bertujuan untuk mengetahui tingkat hambat atau mortalitas bakteri dari efek senyawa metabolit dari bahan alam maupun yang dihasilkan mikroba endofit. Metode uji antibakteri menggunakan metode mikrodilusi cair dan bioautografi menggunakan kromatografi lapis tipis. Metode dilusi merupakan salah satu metode uji antibakteri berdasarkan penentuan hambat pertumbuhan bakteri pada media tertentu. Dilusi terbagi menjadi dua yaitu dilusi cair yang telah diberi antibiotik/sampel yang diuji sedangkan dilusi padat menggunakan media padat yang diencerkan pada media cair, hasil dilusi cair berupa pengamatan dari kekeruhan/turbiditas dilusi cair, sedangkan dilusi padat berdasarkan konsentrasi minimum dalam penghambatan bakteri (Denyer *et al.*, 2011).

Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode uji aktivitas salah satunya aktivitas antibakteri secara *in vitro*, dengan cara suatu biomassa mikroba ditempatkan pada plat KLT kemudian dilakukan elusi. Media yang terisi bakteri patogen yang akan diujikan, perubahan yang terjadi pada hasil uji berdasarkan zona hambat atau menambahkan pereaksi untuk mendeteksi ada tidaknya aktivitas biologis sampel terhadap mikroba yang diujikan dengan menunjukkan perubahan warna, adapun jenis metode Bioautografi KLT yang digunakan salah satunya Bioautografi Agar Lapisan (*Agar Overlay Bioautography*). (Wang *et al.*, 2021; Dewanjee *et al.*, 2015). Keunggulan metode bioautografi ini adalah tidak memerlukan pelarut dalam preparasi konsentrasi sampel standar, murah, dan efektif dalam mendeteksi aktivitas berbagai komponen senyawa baik dalam campuran maupun murni (Balouiri *et al.*, 2016).

Resazurin adalah suatu pereaksi indikator untuk mendeteksi adanya aktivitas metabolisme sel. Resazurin digunakan secara umum untuk menentukan kuantitatif proliferasi toksisitas serta mengkonfirmasi secara kualitatif pertumbuhan sel salah

satunya (bakteri) dengan memanfaatkan sifat reduksi oksidasi. **Gambar 6.** menunjukkan bahwa adanya sel mikroba (bakteri) melakukan metabolisme dalam mereduksi resazurin (biru) menjadi resorufin (merah muda) (Kim *and* Jang, 2018).



Gambar 6. Metabolisme sel bakteri dalam mereduksi resazurin menjadi resorufin.
(Silva *et al.*, 2016)

2.9 Karakterisasi Senyawa

Adapun karakterisasi senyawa yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), dan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LCMS-MS).

2.9.1 *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)*

Spektrofometri inframerah adalah instrumen analisis untuk mengetahui gugus fungsi spesifik berdasarkan interaksi molekul-molekul senyawa dengan serapan radiasi inframerah dengan panjang gelombang tertentu, berkisar $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ menghasilkan karakteristik vibrasi-vibrasi yang diserap berupa vibrasi renggang (*stretching*) dan tekuk (*bending*), dari hasil molekul vibrasi tersebut mengalami eksitasi dan dikonversi menjadi serapan pita oleh detektor dengan persentase transmittan (%T) dan bilangan gelombang (cm^{-1}) (Atkins *et al.*, 2013), berdasarkan area panjang gelombang vibrasi terbagi menjadi dua bagian, pada bilangan gelombang antara $400\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ merupakan area sidik jari/*fingerprint* yang menunjukkan adanya informasi spesifik, dari pengaruh *overlapping* antar vibrasi

sedangkan pada sekitar bilangan gelombang 1500-4000 cm^{-1} merupakan area gugus fungsi spektrum IR yang umum teridentifikasi berbagai gugus fungsi seperti ikatan -OH (hidroksil), $-\text{NH}_2$ (amina), $\text{C}=\text{O}$ (karbonil), C-H, hidrokarbon alkana, alkena, maupun beberapa alkuna dan sebagainya (Jung *et al.*, 2023; Nandiyanto dkk., 2019)

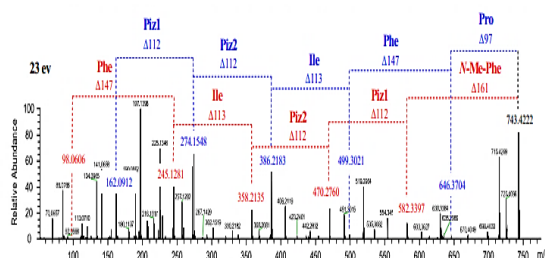
Studi penelitian Gupta *et al.*, (2021) diperoleh suatu analisis FT-IR senyawa aktif antibakteri peptida yang dihasilkan dari ekstrak *cyanobacteria* laut dengan adanya variasi vibrasi ulur dengan bilangan gelombang tertentu di 3545, 3250, 2895, 1745, 1550, dan 1195 cm^{-1} yang terkarakterisasi adanya gugus fungsi meliputi ikatan hidroksil O-H *stretching*, ikatan amina N-H, ikatan C-H, ikatan karbonil ($\text{C}=\text{O}$), $\text{C}=\text{C}$ (cincin aromatic) *stretching*, dan ikatan C-N.

2.9.3 *Liquid Chromatography Mass Spectrometry-Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

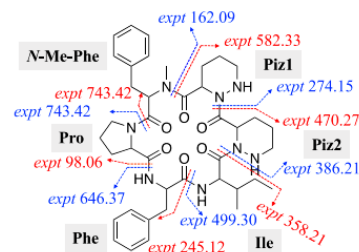
LC-MS/MS merupakan salah satu instrumen analisis yang umum digunakan dalam mengidentifikasi struktur senyawa baik secara metabolomik, lipidomik, maupun proteomic. Terdapat dua tahap pemisahan, yaitu sampel pemisahan secara kromatografi menggunakan fase gerak dan fase diam tertentu melalui kolom kromatografi, kemudian dilanjutkan dengan fragmentasi berbagai molekul menjadi molekul ion muatan massa (m/z). Hasil fragmentasi massa direkam oleh detektor dan diubah menjadi berbagai spektra massa dengan terbagi puncak ion inti (*parent ion*) dan puncak ion pecahan (*daughter ion*) (Thomas *et al.*, 2022).

Penelitian Jiang *et al.*, (2021) melaporkan ditemukan pola fragmentasi struktur senyawa antibakteri suatu peptida yang dihasilkan oleh mikroba laut secara LC-MS/MS. **Gambar 7 (a)** menunjukkan bahwa adanya berbagai pola fragmentasi secara *de novo* dalam memprediksi suatu pola fragmentasi asam amino pada hasil

spektra massa. Spektra massa tersajikan adanya senyawa peptida dengan mode ionisasi $[M+H]^+$ pada 743.42 m/z , ditandai adanya berbagai fragmen-fragmen residu asam amino meliputi prolin (Pro), fenilalanin (Phe), ileusin (Ile), dan beberapa senyawa biosintesis asam amino lainnya seperti N-Metil-Phe, dan asam piperazat (Piz). Masing-masing fragmen yang ada dikelompokkan berdasarkan warna pemutusannya, pada garis putus merah menggambarkan adanya kumpulan fragmen ion pertama dan garis biru merupakan hasil fragmen ion dari pemutusan fragmen lainnya, dikonfirmasi kemungkinan fragmentasi struktur senyawa terlihat pada **Gambar 7 (b)**.



(a)



(b)

Gambar 7. Fragmentasi Senyawa Peptida Siklik, (a) Pola Fragmentasi Asam Amino secara De-Novo (b) Prediksi Struktur Peptida (Jiang et al., 2021).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilakukan pada bulan Agustus 2022 sampai Desember 2023 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung meliputi preparasi sampel dan pengujian antibakteri. Analisis instrumen *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilakukan di Institut Teknologi Bandung (ITB). Analisis instrumen *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi labu *Erlenmeyer* berbagai ukuran, gelas piala, gelas ukur, pipet tetes, kaca preparat, kaca *coverslip*, cawan petri (kaca dan plastik), corong pisah, batang pengaduk, pinset, jarum ose *loop*, spatula, bunsen, korek api, botol vial, spidol, botol kaca berbagai ukuran, botol semprot, gunting, kasa, *aluminium foil*, plastik *wrap*, plastik tahan panas, *microplate* 96 well (IWAKI), mikropipet (200 dan 1000 μ L), keranjang, tip mikropipet, wadah tip, lidi, labu *evaporator* berbagai ukuran, *mikrotube Eppendorff*, wadah *mikrotube*, *container box plastic*, *chamber* berbagai ukuran, pipa kapiler, KLT Plat Aluminium Silica gel KLT 60 F_{254} nm, silika gel 60 F_{254} , *dryer*, *blender*, *hot plate*, *autoclave* (Tomy SX-700), neraca analitik (Wigen Houser dan KERN 440-47N), *Laminar Air Flow* (ESCO/AVC4A1), oven (*Jisico*), *rotary evaporator* (*Buchii/R210*), Mikroskop (*Axio Zeiss A1*), *microplate reader* (*Hospitex diagnostics plate reader*), lampu UV λ 254 dan λ 366 nm (*Kohler/SN402006*), dan inkubator (Mettler-Germany/INC-02).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu, bakteri klinis resisten (*Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*), tisu, kapas, kasa, , *cotton bud*, akuades, alkohol 70%, larutan natrium hipoklorit 5,25%, *plain* agar, kentang, *D-glucose*, air laut buatan, media beras, *Tryptic Soy Broth* (Merck), spirtus, MeOH PA, EtOAc PA , n-Heksana PA, DCM PA, pereaksi visualisasi KLT meliputi ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$), *Dragendorff*, Vanilin-Sulfat, Ninhidrin, *methylene blue*, resazurin, dan antibiotik (*ciprofloxacin* dan *kloramfenikol*).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini melakukan beberapa mekanisme yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.3.1 Pembuatan Media PDA dan PDB

Metode pembuatan media *Potato Dextrose Agar* merujuk pada penelitian (Gao *et al.*, 2021). Kentang dicuci, dikupas, dan dipotong dadu kecil, kemudian ditambahkan dengan air laut steril yang terstandarisasi dengan salinitas 30 ppt, perbandingan kentang dan air laut yang digunakan (1:5). Kentang direbus hingga air berubah agak keruh dan berbuih menunjukkan ekstrak pati kentang keluar. Ekstrak cair kentang disaring, dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian ditambahkan 2% agar dan 2% D-glukosa. Pembuatan media PDB dilakukan ekstrak cair kentang ditambahkan 2% D-glukosa tanpa penambahan agar, Media PDA dan PDB disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit. Media PDA dan media PDB selanjutnya disimpan kedalam oven.

3.3.2 Biomaterial dan Identifikasi Mikroskopis Isolat

Penelitian ini digunakan 7 isolat fungi yang diperoleh dari deposit UPT-LTSIT. Fungi tersebut telah diisolasi dari sampel sedimen *mangrove* di dua tempat, yaitu di Pantai Dewi Mandapa dengan titik koordinat -5.570759°LS 105.240765°BT dan

kawasan wisata *mangrove* Desa Gebang, Pesawaran, Lampung dengan titik koordinat -5.571883°LS 105.243494°BT.

Isolat fungi sedimen *mangrove* diidentifikasi morfologinya menggunakan metode *slide culture* merujuk pada penelitian (Gebreyohannes *et al.*, 2013). *Cover-glass* berukuran 22x22 mm direndamkan kedalam alkohol lalu dikeringkan diatas bunsen menyala sambil digoyangkan kanan ke kiri. *Cover-glass* ditancapkan pada media *nutrient agar* steril dengan sudut 45°. Fungi diambil menggunakan jarum ose dan digoreskan strain fungi pada salah satu sisi *cover-glass* secara perlahan, lalu diinkubasi selama 3-5 hari, setelah 5 hari *cover-glass* dilepas secara perlahan dan diletakkan kaca preparat tepat di area tengah yang telah ditambahkan *methylene blue*, selanjutnya dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa 100x dan 400x.

3.3.3 Peremajaan Isolat

Media *Potato Dextrose Agar* steril dituangkan ke dalam cawan petri di ruangan aseptis, kemudian dilakukan sterilisasi UV pada *Laminar Air Flow* hingga agar memadat, media agar padat selanjutnya isolat diremajakan pada media menggunakan metode *streak plate*, setelah itu cawan petri dirapatkan menggunakan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruangan.

3.3.4 Kultivasi

Strain isolat fungi dilakukan inokulasi dengan memindahkan fungi dari media agar ke dalam 20 mL media kaldu PDB menggunakan ose sebanyak 1 kali, selanjutnya diinkubasi selama 7 hari. Metode kultivasi di media beras mengacu pada penelitian (Wang *et al.*, 2022) dimodifikasi. 100 gram beras dibersihkan dari kotoran dan ditambahkan air laut buatan ke dalam botol kultur 1 L dengan perbandingan beras dan air laut (1:1,5). Media beras diautoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C hingga

media beras mengembang. Inokulum *strain* fungi dalam media PDB ditumbuhkan ke dalam media beras dan diinkubasi selama 14 hari dalam kondisi statik.

3.3.5 Ekstraksi dan Analisis KLT Ekstrak EtOAc Isolat Fungi

Fungi yang telah dikultivasi selama 14 hari di media beras, selanjutnya dimaserasi mengacu pada penelitian (Handayani *et al.*, 2017) dengan beberapa modifikasi perbandingan antara pelarut EtOAc dan media kultur (2,5:2) sebanyak 2 kali, selanjutnya filtrat yang diperoleh akan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* bertekanan 95 mbar pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kasar. Masing-masing ekstrak kasar ditimbang untuk mengetahui biomassa ekstrak fungi pasca kultivasi, selanjutnya dilakukan *monitoring* berbagai komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak menggunakan KLT untuk menentukan kepolaran tersebut menggunakan eluen *n*-heksana dan EtOAc dengan variasi tertentu.

3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji skrining bioaktivitas antibakteri, dilakukan preparasi dengan melakukan sterilisasi alat dan media. Pembuatan larutan stok dilakukan masing-masing ekstrak kasar EtOAc dan antibiotik (*ciprofloxacin* dan *chloramphenicol*) distandarisasi konsentrasi menjadi 2000 ppm (2 mg/mL) yang telah dilarutkan dengan MeOH 12,5% yang akan diuji terhadap bakteri patogen menggunakan metode mikrodilusi cair merujuk pada (Elsikh *et al.*, 2016) dengan beberapa modifikasi. Pengujian bioaktivitas pada strain bakteri klinis resisten yang akan digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari deposit yang tersedia di UPT-LTSIT Universitas Lampung yang diisolasi dari Rumah Sakit Abdul Muluk, Bandar Lampung.

Strain bakteri patogen resisten diinkubasi dalam media *Tryptic Soy Agar* (TSA) selama 18 jam bersuhu 37°C kemudian dikultur dalam medium inokulum *Tryptic Soy Broth* (TSB) dalam akuades steril dengan tingkat kekeruhan/turbiditasnya sesuai dengan standar *Mc Farland* (0,08-0,1). Bakteri yang telah diukur sesuai standar *Mc Farland* dilakukan pengenceran 1:100 dalam media cair TSB.

Metode mikrodilusi cair dilakukan menggunakan *microplate* 96-well. Masing-masing ekstrak yang terstandarisasi dimasukkan ke dalam tiga sumuran dimulai pada blanko diisi 195 µL media TSB yang ditambahkan 25 µL inokulum bakteri, kontrol positif berisi 145 µL media TSB, 50 µL antibiotik 2000 ppm (*kloramfenikol* untuk uji *Staphylococcus aureus* dan *ciprofloxacin* untuk *Pseudomonas aeruginosa*), dan 25 µL inokulum bakteri. Kontrol negatif berisi 145 µL media TSB, 50 µL MeOH PA 12,5%, dan 25 µL inokulum bakteri. Kontrol media ditambahkan 220 µL media TSB. Sampel ekstrak yang akan diuji yang digunakan berisi 145 µL media TSB, 50 µL ekstrak EtOAc sampel fungi (2000 ppm), dan 25 µL inokulum bakteri, selanjutnya diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian diamati berdasarkan hambat pertumbuhan bakteri dengan mengukur absorbansi nilai λ OD₆₀₀ nm menggunakan *microplate reader*.

Metode Bioautografi KLT *Overlay Agar* mengacu pada penelitian (Lo *et al.*, 2022) dengan beberapa modifikasi perlakuan dan penambahan resazurin sebagai indikator pertumbuhan bakteri, sampel ekstrak ditempatkan pada plat KLT silika sebagai fase diam menggunakan pipa kapiler, kemudian dilakukan elusi dengan pelarut dan perbandingan eluen tertentu hingga batas eluen. Plat KLT yang berisi sampel yang terelusi diletakkan pada cawan petri steril, 10 mL media *Mueller Hinton Agar* yang telah ditambahkan 100 µL inokulum cair *Mueller Hinton Broth* yang telah ditambahkan bakteri resisten yang telah diinkubasi selama 2 jam dituang ke dalam cawan petri yang berisi noda sampel pada plat KLT, didiamkan selama 5 menit hingga agar mengeras, kemudian cawan dirapatkan menggunakan *plastic wrap* dan dipindahkan ke dalam kulkas selama 1 jam untuk mempermudah sampel menyerap

pada permukaan media agar, setelah pendinginan selama 1 jam, dilakukan inkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C, setelah inkubasi 18 jam, media ditambahkan 3 mL resazurin 0,3%, lalu didiamkan dan diratakan selama 5-10 menit hingga tidak adanya perubahan warna dari warna biru menjadi merah muda *spot* aktif antibakteri.

3.3.7 Produksi dan Pemisahan Ekstrak EtOAc Fungi (*Scale Up*)

3.3.7.1 Kultivasi dan Ekstraksi Skala Besar Ekstrak Fungi Unggul

Strain fungi unggul dari hasil skrining antibakteri terhadap kedua bakteri resisten klinis tersebut, dilakukan kultivasi media padat skala yang lebih banyak menggunakan media beras padat dengan air laut steril. Proses kultivasi skala besar mengacu pada penelitian (Wang *et al.*, 2023) dilakukan menggunakan 15 botol *amber* berukuran 2,5 L dengan tiap botol perbandingan media beras dan air laut steril (1:1,5). Inokulum fungi yang telah diinkubasi 7 hari selanjutnya ditumbuhkan pada media kultivasi beras padat selama 14 hari. Setelah 14 hari inkubasi dilakukan, kultur fungi ditambahkan pelarut EtOAc sebanyak 2 x 700 mL untuk menghentikan fase pertumbuhan sel dan melarutkan senyawa metabolit terkandungnya. Filtrat dipekatkan dan diperoleh ekstrak pekat yang akan dilakukan pengujian dan pemurnian senyawa lebih lanjut.

3.3.7.2 Pemisahan Ekstrak EtOAc Fungi (*Scale up*)

Ekstrak pekat fungi dilakukan partisi senyawa berdasarkan perbedaan dan distribusi kepolaran senyawa menggunakan dua pelarut MeOH dan *n*-Heksana dengan perbandingan (1:1). Partisi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, lalu kedua fraksi MeOH dan *n*-Heksana dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Kedua ekstrak pekat hasil partisi MeOH dan *n*-Heksana dilakukan uji pendahuluan senyawa dan aktivitasnya menggunakan kromatografi lapis tipis. Ekstrak pekat hasil partisi terpilih dilakukan *clean-up* atau pemisahan senyawa menggunakan kolom. Pada penelitian ini silika digunakan sebagai fase diam dan fase gerak yang digunakan

berupa variasi kepolaran yang berbeda berdasarkan visualisasi *spot* aktif dari kromatografi lapis tipis.

Metode fraksinasi kolom secara *clean-up* dilakukan dengan memasukkan silika ke dalam kaca kolom, kemudian fasa gerak non polar ditambahkan ke dalamnya, selanjutnya sampel yang telah dilarutkan dalam pelarut non polar dan dialirkan sedikit demi sedikit ke dalam kolom kaca yg terisi silika dan pelarut, pelarut fase gerak dengan pelarut kepolaran tertentu ditambahkan hingga terjadi pemisahan noda warna dan senyawa hasil fraksinasi ditampung dalam botol vial. Berbagai fraksi senyawa dilakukan analisis kromatografi lapis tipis, visualisasi menggunakan sinar UV₂₅₄ dan penambahan pereaksi spesifik.

3.3.8 Karakterisasi Senyawa Aktif

Karakterisasi fraksi aktif isolat fungi dilakukan menggunakan beberapa instrumen meliputi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan LC-MS/MS. Analisis instrumen LC-MS/MS menggunakan kolom ACQUITY UPLC HSS C₁₈ (1,8 µm x 2,1 x 100 mm (Waters) dan Xevo G2-S Q-ToF Mass Spectro (Waters).

Analisis struktur dari hasil LC-MS/MS secara komputasi mengacu pada penelitian (Schinagl *et al.*, 2023; Hamed *et al.*, 2023) dengan beberapa modifikasi. Analisis ini dilakukan menggunakan *software SIRIUS* 5.8.6 untuk mengetahui kecocokan pola *fingerprint ion* berupa *fragmentation trees* berdasarkan *web database* senyawa. Mula mula data *file .raw* yang berasal dari hasil analisis LC-MS-MS dikonversi menjadi format file *.mzXML* menggunakan aplikasi *MSConvert ProteoWizard 3.0*, selanjutnya data dideteksi massa spektranya dan dilakukan konversi dalam format data *mgf (Mascot Generic Format)* menggunakan *software Mzmine 2.53*. Data yang terkonversi dianalisis menggunakan *software SIRIUS* 5.8.6 meliputi beberapa tahap (pendaftaran akun, setting prekursor dan ionisasi [M+H]⁺ serta melakukan *scanning* komputasi beberapa senyawa untuk mendapatkan pola fragmen ion unik).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapat kesimpulan sebagai berikut:

1. 7 Isolat fungi sedimen *mangrove* dengan kode, 21RSM-08, 21RSM- 09, dan 21RSM-12 dicirikan sebagai fungi dalam genus *Penicillium sp.* 21RSM-10, diasumsikan fungi dari genus *Aspergillus sp.*, sedangkan isolat dengan kode 21RSM-06, 21RSM-07 dan 21RSM-11 belum teridentifikasi.
2. Hasil uji antibakteri ekstrak 21RSM-12 dari media beras dengan kode 21RSM-10 dan 21RSM-12 menunjukkan persentase inhibisi pertumbuhan 70,2% terhadap bakteri *S. aureus* dikonfirmasi pada uji bioautografi KLT pada fraksi aktif 21RSM12 ditandai perubahan *spot* berwarna biru.
3. Karakterisasi FT-IR menandakan serapan ikatan O-H pada bilangan gelombang 3404 cm^{-1} , bilangan gelombang 1722 dan 1641 cm^{-1} terindikasi serapan ikatan karbonil jenis amida, serta adanya serapan kuat ikatan C-O pada bilangan gelombang 1056 cm^{-1}
4. Analisis LC-MS/MS didapat senyawa turunan lipopentapeptida linear Stearoyl(C_{18})-Met-Gly-Tyr-Gln-Lys-NHMe dengan formula molekul $\text{C}_{53}\text{H}_{94}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{S}$ dan m/z 905,5952.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dipaparkan, saran yang diberikan untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Eksplorasi lebih lanjut aktivitas antibiofilm isolat 21RSM-12 serta pendekatan aktivitas antibakteri secara *in silico molecular docking* terhadap target protein bakteri resisten klinis *S. aureus*.
2. Pemurnian senyawa lebih lanjut pada ekstrak fungi terunggul, untuk dikarakterisasi menggunakan instrumen LC-HRMS/MS, diaplikasikan dengan pendekatan metode *Molecular networking* sebagai pencarian struktur senyawa antibiotik baru sebelum dilakukan karakterisasi NMR.
3. Perlakuan karakterisasi menggunakan instrumen NMR sebagai pencarian spesifik struktur senyawa antibiotik.
4. Perlunya analisis jalur biosintesis senyawa dari isolat 21RSM-12, untuk mengkaji lebih lanjut proses pembentukan senyawa metabolit sekunder sehingga potensinya digunakan dalam pengembangan farmasi obat bahan alam.
5. Perlunya identifikasi secara filogenetik, dan kajian lebih lanjut toksisitas serta aktivitas antikanker sebagai salah satu informasi *lead compound* antibiotik ataupun *anticancer drug* dalam dunia farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfei, S., Schito, G. C., Schito, A. M., and Zuccari, G. 2024. Reactive Oxygen Species (ROS)-Mediated Antibacterial Oxidative Therapies: Available Methods to Generate ROS and a Novel Option Proposal. *Int. J. Mol. Sci.* **25**(13): 1-56.
- Anandan, P., Vetrivel, S., Karthikeyan, S., Jayavel, R., and Ravi, G. 2012. Crystal Growth, Spectral and Thermal Analyses of a Semi Organic Nonlinear Optical Single Crystal: L-Tyrosine Hydrochloride. *Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications*. **6**(11-12): 1128-1133.
- Ancheeva, E., Daletos, G., and Proksch, P. (2018). Lead Compounds from Mangrove-Associated Microorganisms. *Marine drugs*. **319**(16), 1-31.
- Ashari, A. M., dan Warsidah. (2021). Diversitas Bakteri Pengurai Sasah Daun Mangrove *Avicenna lanata* di Hutan Mangrove Desa Sungai Bakau Besar. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **11**(2), 144-151.
- Atkins, P. W., Jones, L., and Laverman, L. E. (2013). *Chemical Principles*. W. H. Freeman.
- Babayevska, N., Przysiecka, L., Iatsunskyi, I., Nowaczyk, G., Jarek, M., Janiszewska, E., and Jurga, S. 2022. ZnO Size and Shape Effect on Antibacterial Activity and Cytotoxicity Profile. *Scientific Reports*. **12**(1):8148
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., dan Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*. **6**(1): 16-26.
- Bahri, S., Fajarwati, A. E., Setiawan, A., Hendri, J., Yuwono, S. D., Ambarwati, Y., and Zainul, R. 2024. Steroid Compounds from Endophytic (*Penicillium* sp.) of Mangrove *Avicennia marina*. *Journal of Medicinal and Chemical Sciences*. **7**(2): 402-425
- Bahri, S., Setiawan, W. A., Setiawan, F., Lutfiah, R., Juliasih, N. L. G. R., Ambarwati, Y., Ahmadi, P., Arai, M., Hendri, J., Hadi, S., and Setiawan, A. 2024. Activity of Mangrove-Derived *Fusarium equiseti* 20CB07RF Extract Against Clinical, Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Science and Technology Indonesia*. **9**(3): 594-604.

- Balaouri, M., Sadiki, M., and Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. **6**: 71-79.
- Balkan, B., and Ertan, F. 2007. Production of α -Amylase from *Penicillium chrysogenum* under Solid-State Fermentation by Using Some Agricultural By-Products. *Food Technol. Biotechnol.* **45**(4):439-442.
- Barale, S. S., Ghane, S. G., and Sonawane, K. D. 2022. Purification and characterization of antibacterial surfactin isoforms produced by *Bacillus velezensis* SK. *AMB Express*. **12**(7): 1-20.
- Benassi, V. M., Lucas, R. C. D., Jorge, J. A., and Polizeli, M. D. L. T. D. M. 2014. Screening of Thermotolerant and Thermophilic Fungi Aiming β -Xylosidase and Arabinanase Production. *Brazilian Journal of Microbiology*. **45**(4): 1459-1467.
- Bohemen, A. I. V., Ruiz, N., Vergnoux, A. Z., Michaud, A., Pont, T. R. D., Druzhinina, I., Atanasova, L., Prado, S., Bodo, B., Cladiere, L. M., Cochereau, B., Bastide, F., Maslard, C., Marchi, M., Guillemette, T., and Pouchus, Y. F. 2021. Pentadecaibins I-V: 15-Residue Peptaibols Produced by a Marine-Derived *Trichoderma* sp. of the *Harzianum* Clade. *J. Nat. Prod.* **84**(4): 1271-1282.
- Boukir, A., Fellak, S., and Doumenq, P. 2019. Structural Characterization of *Argania spinosa* Moroccan wooden artifacts during natural degradation progress using infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and X-Ray diffraction (XRD). *Heliyon*. **5**(9): 1-9
- Cai, J., Chen, C., Tan, Y., Chen, W., Luo, X., Luo, L., Yang, B., Liu, Y., and Zhou, X. (2021). Bioactive Polyketide and Diketopiperazine Derivatives from the Mangrove-Sediment-Derived Fungus *Aspergillus* sp. SCSIO41407. *Molecules*. **4851**(26): 1-10
- CDC. 2022. COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance. <https://www.cdc.gov/drugresistance/covid19.html>. Diakses tanggal 7 Juli 2022 pukul 11:20.
- Chaudhary, V., Katyal, P., Panwar, H., Puniya, A. K., and Poonia, A. K. 2022. Evaluating anti-microbial and anti-oxidative potential of red biopigment from *Monascus purpureus*. *Environment Conservation Journal*. **23**(1&2): 83-93
- Daulat, A., Mariska, A. A., Rizki, A. A., dan Widodo, S. W. 2014. Sebaran Kandungan CO₂ Terlarut di Perairan Pesisir Selatan Kepulauan Natuna. *Depik*. **3**(2): 166-177.

- Denyer, S. P., Hodges, N., Gorman, S. P., and Gilmore, B. F. 2011. *Hugo and Russels's Pharmaceutical Microbiology*. John Wiley & Sons.
- Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., and Dua, T. K. 2015. Bioautography and its Scope In The Field of Natural Product Chemistry. *J Pharm Anal*. 5(2):75-84.
- Diggle, S.P., and Whiteley, M. 2020. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*. 166, 30-33.
- Ding, L., Ren, L., Li, S., Song, J., Han, Z., He, S., and Xu, S. 2019. Production of New Antibacterial 4-Hydroxy- α -Pyrones by a Marine Fungus *Aspergillus niger* Cultivated in Solid Medium. *Marine Drugs*. 17(6):1-18
- Djamaluddin, R. (2018). *Mangrove Biologi, Ekologi, Rehabilitasi, dan Konservasi*. Unsrat Press. Manado. hlm 237.
- Dryden, M.S., Cooke, J., Salib, R.J., Holding, R.E., Biggs, T., Salamat, A.A., Allan, R.N.; Newby, R.S., Halstead, F., and Oppenheim, B. 2017. Reactive Oxygen: A Novel Antimicrobial Mechanism for Targeting Biofilm-Associated Infection. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 8: 186–191.
- Ebrahimi, S., Jalili, H., Khajeh, K., Noghabi, K. A., Ebrahimi, M. T., and Amrane, A. 2019. Production and Characterization of Biosurfactants Using Bacteria Isolated from Acidic Hot Springs. *Applied Food Biotechnology*. 6(2):127-138
- Efendi, M. R., Rusdi, M. S., dan Dinda, A. 2022. Antibacterial activity of Ethyl Acetate Extracts of Fungal Endophytes Isolated from Leaf Gambir Leaves (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb). *Jurnal Ilmu Farmasi*. 19(1): 17-23.
- Elsikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., and Banat, I. B. 2016. Resazurin-Based 96 Well Plate Microdilution Method for the Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Biosurfactans. *Biotechnol Lett*. 38(6): 1015-1019.
- Ganesan, N., Mishra, B., Felix, L., and Mylonakis, E. 2023. Antimicrobial Peptides and Small Molecules Targeting the Cell Membrane of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Mol Bio Rev*. 87(2): 1-25.
- Gao, H., Wang, Y., Luo, Q., Yang, L., He, X., Wu, J., Kachanuban, K., Wilaipun, P., Zhu, W., and Wang, Y. 2021. Bioactive Metabolites from Acid-Tolerant Fungi in a Thai Mangrove Sediment. *Front. Microbiol*. 11: 1-14.
- Gautam, G., Mishra, V., Verma, P., Pandey, A. K., and Negi, S. 2014. A Cost Effective Strategy for Production of Bio-Surfactant from Locally Isolated *Penicillium chrysogenum* SNP5 and Its Applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*. 4(6):1-7

- Gebreyohannes, G., Moges, F., Sahile, S., and Raja, N. 2013. Isolation and Characterization of Potential Antibiotic Producing Actinomycetes from Water and Sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pac J Trop Biomed.* **3**(6): 426-435.
- Ghoran, S. H., Taktaz, F., Sousa, E., Fernandes, C., and Kijjoa, A. 2023. Peptides from Marine-Derived Fungi: Chemistry and Biological Activities. *Marine Drugs.* **21**: 1-82
- Girisham, S., Rao, V. K., and Reddy, S. M. 2016. *Taxonomy of Mycotoxigenic Fungi*. Scientific Publishers. New Delhi. India
- Goncalves, M. F. M., Esteves, A. C., and Alves, A. 2022. Marine Fungi: Opportunities and Challenges. *Encyclopedia.* **2**: 559-577.
- Gupta, V., and Vyas, D. 2021. Antimicrobial Effect of a Cyclic Peptide Nostophycin Isolated from Wastewater Cyanobacteria, *Nostoc calciola*. *Current Botany.* **12**: 94-101
- Gurgel, R. S., Pereira, D. I. D. M., Garcia, A. V. F., Souza, A. T. F. D., Silva, T. M. D., Andrade, C. P. D., Silva, W. L. D., Nunez, C. V., Fantin, C., Procópio, R. E. D. L., and Albuquerque, P. M. 2023. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Endophytic Fungi Associated with *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae). *Journal of Fungi.* **9**(8):1-19
- Hamed, A. A., El-Shiekh, R. A., Mohamed, O. G., Aboutabl, E. A., Fathy, F. I., Fawzy, G. A., Taweel, A. M., Elsayed, T. R., Tripathi, A., and Al-Karmalawy, A. A. 2023. Cholinesterase Inhibitors from an Endophytic Fungus *Aspergillus niveus* Fv-er401: Metabolomics, Isolation and Molecular Docking. *Molecules.* **28**: 1-18
- Handayani, D., Rivai, H., Hutabarat, M., and Rasyid, R. 2017. Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from mangrove plant *Sonneratia griffithii* Kurtz. *Journal Applied Pharmaceutical Science.* **7**(4):9-12
- Harmita, K., Harahap, Y., dan Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penelitian. Jakarta
- Hasnawati, H., Wahyuono, S., Susidarti, R. A., Santosa, D., and Arfan, A. 2023. A New Diterpenoid of Indonesian *Scoparia dulcis* Linn: Isolation and Cytotoxic Activity against MCF-7 and T47D Cell Lines. *Molecules.* **28**(16): 1-23.
- Hawari, A., Amin, B., dan Efriyeldi. (2013). Hubungan Antara Bahan Organik Sedimen dengan Kelimpahan Makrozoobenthos di Perairan Pantai Pandan Provinsi Sumatera Utara. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Budidaya Perairan.* **1**(4), 22-25.

- Hernández, B., Pflüger, F., Adenier, A., Kruglik, S. G., and Ghomi. 2011. Side Chain Flexibility and Protonation States of Sulfur Atom Containing Amino Acids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**(38): 17284-17294.
- Hollmann, A., Martinez, M., Noguera, M.E, Agosto, M.T., Disalvo, A., Santos, N.C., Semorile, L., and Maffia, P.C. 2016. Role of Amphipathicity and Hydrophobicity in the balance between Hemolysis and Peptide-membrane Interactions of Three related Antimicrobial Peptides. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. **141**: 528-536.
- Hou, X. M., Li, Y. Y., Shi, Y. W., Fang, Y. W., Chao, R., Gu, Y. C., Wang, C. Y., and Shao, C. L. Integrating molecular networking and ^1H NMR to target the Isolation of Chrysogenamides from a library of the marine-derived *Penicillium* fungi. *J. Org. Chem.* **84**:1228-1237
- Hu, C. C., Liu, L. Y., and Yang, S. S. 2012. Protein Enrichment, cellulase production and *in vitro* digestion improvement of pangolagrass with solid state fermentation. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **45**(1):7-14
- Indrawati, A., Agus, H., dan Prijadi, S. (2013). Analisa Klorofil-a, Nitrat, dan Fosfat pada Vegetasi Mangrove Berdasarkan Data Lapangan dan Data Satelit Geoye di Plau Parang, Kepulauan Karimun Jawa. *Journal of Management of Aquatic Resources*. **2**(2), 28-37.
- Inostroza, A., Lara, L., Paz, C., Perez, A., Galleguillos, F., Hernandez, V., Becerra, J., Gonzalez-Rocha, G., and Silva, M. 2018. Antibiotic Activity of Emerimicin IV isolated from *Emericellopsis minima* from Talcahuano Bay. *Nat. Prod. Res.* **32**:1361-1364.
- Jiang, L., Huang, P., Ren, B., Song, Z., Zhu, G., He, W., Zhang, J., Oyeleye, A., Dai, H., Zhang, L., and Liu, X. 2021. Antibacterial Polyene-Polyol Macrolides and Cyclic Peptides from the Marine-Derived *Streptomyces* sp. MS110128. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **105**: 4975-4986
- Jiménez, M. A., and Martínez, R. 2017. Solid State Fermentation (SSF): Diversity of Applications to Valorize Waste and Biomass. *Biotechnology*. **7**(44):1-9
- Joshi, L. R., Tiwari, A., Devkota, S. P., Khatiwada, S., Paudyal, S., and Pande, K. R. 2014. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Diary Farms of Pokhara, Nepal. *International Journal of Veterinary Science*. **3**(2):87-90.
- Jung, G., Jung, S. G., and Cole, J. M. 2023. Automatic Materials Characterization From Infrared Spectra Using Convolutional Neural Networks. *Chem.Sci.* **14**(13): 3600-3609.

- Kayah, N., Nurnawati, E., and Widjajanti, W. 2019. Potency and Activity of Secondary Metabolite of *Trichoderma harzianum* AC1(b) J2 Inhibitor growth *Colletotrichum capsici* IPBCC 13.1098. *Biological Research Journal*. **5**(1):38-44
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. 2021. Kondisi Mangrove di Indonesia. <https://www.kkp.go.id/djprl/p4k/page/4284-kondisi-mangrove-di-indonesia>. Diakses tanggal 6 Februari 2023 pukul 16:05.
- Kim, H. J., and Jang, S. (2018). Optimization of a resazurin-based microplate assay for large-scale compound screenings against *Klebsiella pneumonia*. *3 Biotech*. **8**(3), 1-6
- Kumar, S., Jyotirmayee, K., and Sarangi, M. 2013. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*. **18**(1):126-132.
- Kuswandani, F., Satari, M. H., dan Maskoen, A. M. (2019). Antimicrobial Efficacy of *Myrmecodia pendens* Extract and Fraction Combination against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Journal of Dentistry Indonesia*. **26**(3), 119-125.
- Landi, N., Clemente, A., Pedone, P. V., Ragucci, S., and Maro, A. D. 2022. An Updated Review of Bioactive Peptides from Mushrooms in a Well-Defined Molecular Weight Range. *Toxins*. **14**(2):1-19
- Liang, R., Yang, Q., Li, Y., Yin, G., and Zhao, G. 2024. Morphological and Phylogenetic Analyses Reveal Two New *Penicillium* species Isolated from the Ancient Great Wall Loess in Beijing, China. *Front Microbiol*. **15**:1-14.
- Lo, M. M., Benfodda, Z., Rémy, C. D., Bénimélis, D., Roulard, R., Fontaine, J. X., Mathiron, D., Quéro, A., Molinié, R., and Meffe, P. 2022. Isolation and Identification of Flavones Responsible for the Antibacterial Activities of *Tillandsia bergeri* Extracts. *ACS Omega*. **40** (7); 35851-35862.
- Lowy, F. D. 2003. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest*. **111**(9):1265-1273.
- Ma, X., Wang, Q., Ren, X., Xu, T., Zhang, Z., Xu, M., Rao, Z., and Zhang, X. 2024. A Review of Antimicrobial Peptides: Structure, Mechanism of Action, and Molecular Optimization Strategies. *Fermentation*. **10**(11): 1-20.
- Mahmud, M. S., Alam, M. G., Nahar, S., and Hossain, M. J. 2016. Partial Purification and Characterization of Alkaline Protease from *Pseudomonas aeruginosa* for Tannery in Bangladesh. *Asian-Australian Journal of Bioscience and Biotechnology*. **1**(2):221-229.

- Mattedi, A., Sabbi, E., Farda, B., Djebaili, R., Mitra, D., Ercole, C., Cacchio, P., Gallo, M. D., and Pellegrini, M. 2023. Solid-State Fermentation: Applications and Future Perspectives for Biostimulant and Biopesticides Production. *Microorganisms*. **11**(6):1-22
- Mustafa, H. K., Anwer, S. S., and Zrary, T. J. 2023. Influence of pH, agitation speed, and temperature on growth of fungi isolated from Koya, Iraq. *Kuwait Journal of Science*. **50**(4);657-664.
- Naik, B., Goyal, S. K., Tripathi, A. D., and Kumar, V. 2021. Exploring the Diversity of Endophytic Fungi and Screening for their Pullulanase-producing Capabilities. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. **19**(1):1-10
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., dan Ragadhita. 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indonesian Journal of Science & Technology*. **4**(1): 97-118
- Oktaviantri, D.E., Feladita, N., dan Agustin, R. 2019. Identifikasi Hidrokuinon dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah pada Tiga Klinik Kecantikan di Bandar Lampung dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analis Farmasi*. **4**(2), 91-97.
- Oliveira, D. M. P. D., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., and Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, **33**(3), 1-49.
- Orfali, R., and Perveen, S. 2019. New Bioactive Metabolites from the Thermophilic Fungus *Penicillium* sp. Isolated from Ghamiqa Hot Spring in Saudi Arabia. *Journal of Chemistry*. **1**: 1-7
- Ramadan, A. M. A. A., Zidan, S. A. H., Shehata, R. M., El-Sheikh, H. H., Ameen, F., Stephenson, S. L., and Al-Bedak, O. A. M. 2024. Antioxidant, antibacterial, and molecular docking of methyl ferulate and oleic acid produced by *Aspergillus pseudodeflectus* AUMC 15761 utilizing wheat bran. *Science Reports*. **14**:1-22
- Rasheed, N. A., and Hussein, N. R. 2021. *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. **8**(3): 1160-1183.
- Ravikumar, N., and Thomas, A. 2022. Compositional Analysis of Four Varieties of Rice Cheruvally, Njavara, D1 and Bhadra. *IJARBS*. **9**(5), 12-18.
- Razak, D. L. A., Jamaluddin, A., Rashid, N. Y. A., Ghani, A. A., and Manan, M. A. 2019. Assessment Of Fermented Broken Rice Extracts for Their Potential As

- Functional Ingredients In Cosmeceutical Products. *Annals of Agricultural Sciences*. **64**(2); 176-182.
- Reina, R. R., and Azcarate, S. M. 2022. How Chemometrics Revives the UV-Vis Spectroscopy Applications as an Analytical sensor for *Spectralprint* (Nontargeted) Analysis. *Chemosensors*. **11**(8): 1-22.
- Rohde, M. 2019. The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. *Microbiol Spectrum*. **7**(3):1-21.
- Rohman, A. (2020). *Analisis Farmasi dengan Kromatografi Cair*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 338 hlm.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Puntadewa, Yogyakarta. 94 hlm.
- Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S., and Dobson, A. D. W. 2018. Extending the “One Strain Many Compounds” (OSMAC) Principle to Marine Microorganisms. *Marine drugs*. **244**(16), 1-29.
- Rosamah, E.(2019). *Kromatografi Lapis Tipis Metode Sederhana Dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Sachdeva, S. 2017. Peptides as ‘Drugs’: The Journey so Far. *Int J. Pept Res. Ther.* **23**: 49-60
- Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., and Alqumber, M. A. A. 2023. Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*. **11**(13):1-20.
- Sapar, A., Millenia, Aritonang, A. B., Rudiansyah., dan Rahmalia, W. 2023. Characterization of Secondary Metabolites and Cytotoxic Assay of *Haliclona* sp. Sponge against T47D Breast Cancer Cells. *al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. **10**(1): 40-49
- Schinagl, C. W., Siewert, B., Hammerle, F., Spes, G., Peintner, U., Schlierenzauer, M., and Vrabl, P. 2023. Growth, morphology, and formation of cinnabarin in *Pycnoporus cinnabarinus* in relation to different irradiation spectra. *Photochemical & Photobiological Sciences*. **22**: 2861-2875.
- Sedjati, S., Ambariyanto, S., Trianto, A., Supriyanti, E., Ridlo, A., Bahry, M. S., Jezi, R. R., dan Sany, M. F. 2020. Antimicrobial Activity of Fungal Extract of The *Aspergillus flavus* from Hiri Island, North Maluku to Pathogenic Bacteria. *Jurnal Kelautan Tropis*. **23**(1):127-135
- Sekurova, O. N., Schneider, O., and Zotchev, S. B. 2019. Novel bioactive natural products from bacteria via bioprospecting, genome mining and metabolic engineering. *Microb Biotechnol*. **12**(5): 828-844.

- Sheik, S., Bhagya, N., and Chandrashekar, K.R. 2020. Cytotoxic and decolorizing potential of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., Isolated from *Salacia chinensis* Lim. *South African Journal of Botany*. **134**: 146-150.
- Sowphartani, K., and Kathiravan, G. 2011. In vitro antibacterial screening of ethyl acetate extract endophytic fungi isolated from *Phyllanthus amarus* (Schum & Thonn). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. **10**: 1-4
- Silva, F. S. G., Starostina, I. G., Ivanova, V. V., Rizvanov, A. A., Oliveira, P. J., and Pereira, S. P. 2016. Determination of Metabolic Viability and Cell Mass using a Tandem Resazurine/Sulforhodamine B Assay. *Curr. Protoc. Toxicol*. **68**: 1-15
- Sinarsih, N. K., Rita, W. S., dan Puspawati, N. M. 2021. Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus*. *IJACR*. **3**(1): 1-5.
- Song, F., Lin, R., Yang, N., Jia, J., Wei, S., Han, J., Li, J., Bi, H., and Xu, X. 2021. Antibacterial Secondary Metabolites from Marine-Derived Fungus *Aspergillus* sp. IMCASMF180035. *Antibiotics*. 377(10), 1-9
- Srivastava, N., Srivastava, M., Ramteke, P. W., and Mishra, P. K. 2019. Solid-State Fermentation Strategy for Microbial Metabolite Production: An Overview. *New and future developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. 345-354.
- Steinbuch, K. B., and Fridman, M. 2016. Mechanisms of resistance to membrane-disrupting antibiotics in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Med. Chem. Commun*. **86**(7), 86-102.
- Thamizhmani, R., and Senthilkumaran, R. 2012. Diversity of fungi in selected mangroves along the east coast of India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 1(1), 29-33. Marine Fungi: Opportunities and Challenges. *Encyclopedia*. **2**: 559-577.
- Thatoi, H., Behera, B. C., and Mishra, R. R. 2013. Ecological role and biotechnological potential of mangrove fungi: a review. *Mycology*. **4**(1): 54-71.
- Thomas, S. N., French, D., Jannetto, P. J., Rappold, B. A., and Clarke, W. A. 2022. Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry for Clinical Diagnostics. *Nat Rev Methods Primers*. **2**(1):1-14
- Thongjun, J., Tansila, J., Panthong, K., Tanskul, S., Nishibuchi, M., and Vuddhakul, V. 2016. Inhibitory potential of biosurfactants from *Bacillus amyloliquefaciens* derived from mangrove soil against *Vibrio parahaemolyticus*. *Ann Microbiol*. **66**: 1257-1263

- Tsang, C. C., Tang, J. Y. M., Lau, S. K. P., and Woo, P. C. Y. 2018. Taxonomy and Evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the Omics era- Past, Present and Future. *Comput Struct Biotechnol J*. **16**:197-210
- Vidya, P., and Sebastian, C. D. 2022. Yeast Diversity in the Mangrove Sediments of North Kerala, India. *Eur J Biol*. **81**(1), 50-57.
- Wahyuni dan Ramadhani, I. (2020). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Pena Persada. Jawa Tengah. hlm 143.
- Wang, H., Liu, Z., Duan, F., Chen, Y., Qiu, K., Xiong, Q., Lin, H., Zhang, J., and Tan, H. 2023. Isolation, Identification, and Antibacterial Evaluation of Endophytic Fungi from Gannan Navel Orange. *Front. Microbiol*. **14**: 1-13.
- Wang, M., Zhang, Y., Wang, R., Wang, Z., Yang, B., and Kuang, H. 2021. An Evolving Technology That Integrates Classical Methods with Continuous Technological Developments: Thin-Layer Chromatography Bioautography. *Molecules*. **26**(15):1-21.
- Wang, X., Lin, M., Xu, D., Lai, D., and Zhou, L. 2017. Structural Diversity and Biological Activities of Fungal Cyclic Peptide, Excluding Cyclodipeptides. *Molecules*. **22**(12):1-47
- Wang, Y., Chen, W., Xu, S., Bai, Q., Zhou, X., Zheng, C., Bai, M., and Chen, G. 2022. Biological Secondary Metabolites from the *Lumnitzera littorea*-Derived Fungus *Penicillium oxalicum* HLLG-13. *Marine Drugs*. **21**: 1-12
- WHO. 2017. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed.html>. Diakses tanggal 2 Februari 2023 pukul 04:06.
- Witkowski, M., Trybiński, D., Pawłędzio, S., Woźniak, K., Dzwolak, W., and Królikowska, A. 2023. The Structural Characterisation and DFT-Aided Interpretation of Vibrational Spectral for Cyclo(L-Cys-D-Cys) Cyclic Dipeptide in a Solid State. *Molecules*. **28**(15):1-19
- Yin, Y., Tan, Q., Wu, J., Chen, T., Yang, W., She, Z., and Wang, B. 2023. The Polyketides with Antimicrobial Activities from a Mangrove Endophytic Fungus *Trichoderma lentiforme* ML-P8-2. *Marine Drugs*. **21**(11); 1-11.
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Gonzalez, E. R., and Cho, N. J. 2018. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. *Int J. Mol. Sci*. **19**(8):1-40.

- Yu, F., Shen, Y., Qin, Y., Pang, Y., Fan, H., Peng, Pei, X., and Liu, X. 2022. Isolation and Purification of antibacterial lipopeptides from *Bacillus velezensis* YA215 isolated from sea mangroves. *Front Nutr.* **9**:1-15
- Yu, X., Li, L., Sun, S., Chang, A., Dai, X., Li, H., Wang, Y., and Zhu, H. 2021. A cyclic dipeptide from marine fungus *Penicillium chrysogenum* DXY-1 exhibits anti-quorum sensing activity. *ACS Omega.* **6**: 7693-7700
- Yunardi, Y., Meilina, H., Fathanah, U., Mahadina, R., Rinaldi, A., and Jauharlina. 2020. Enhancing Rice Bran Oil Yield Through Solid State Fermentation Pretreatment with Fungi. *RASYAN J. Chemistry.* **13**(3):1537-1543.
- Zheng, J., Zhu, H., Hong, K., Wang, Y., Liu, P., Wang, X., Peng, X., and Zhu, W. 2009. Novel Cyclic Hexapeptides from marine-derived fungus, *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. *Org. Lett.* **11**(22);5262-5265.
- Zorzi, A., Deyle, K., and Heinis, C. 2017. Cyclic peptide therapeutics: Past, present and future. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **38**: 24-29