

**INVESTIGASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT MANGROVE
22PLP1-F1 PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA SAWIT
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

(Skripsi)

Oleh

**A. WHISNU SHAKTHI AL GHOZALI
2117011014**



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

ABSTRAK

INVESTIGASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT MANGROVE 22PLP1-F1 PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA SAWIT SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN

Oleh

A. Whisnu Shakthi Al Ghozali

Metabolit sekunder fungi endofit mangrove memiliki potensi sebagai sumber bioaktif antibakteri. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kultur fungi endofit mangrove pada media limbah serabut kelapa sawit, mengetahui aktivitasnya sebagai antibakteri, dan mengetahui profil senyawanya. Isolat 22PLP1-F1 dikultur pada tiga media berbeda lalu diamati morfologinya. Isolat tunggal selanjutnya dikultivasi secara *One Strain Many Compound* (OSMAC) menggunakan serabut kelapa sawit dan bakteri patogen selama 14 hari. Biomassa hasil kultivasi diekstraksi menggunakan pelarut diklorometana : MeOH (1:1) dan dipartisi menggunakan diklorometana : akuades (1:3). Ekstrak diskriminasi aktivitas antibakterinya menggunakan metode *microtiter 96-well plate*. Komponen ekstrak kemudian dievaluasi menggunakan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak aktif selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi kolom terbuka kemudian diuji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan dianalisis KLT untuk mengonfirmasi komponen bioaktif. Fraksi aktif kemudian dikarakterisasi dengan LC-MS/MS menggunakan aplikasi Masslynx 4.1 dan SIRIUS 6.2.2 untuk mengidentifikasi profil senyawa bioaktif. Dalam penelitian ini, isolat 22PLP1-F1 telah berhasil dikultur dalam media serabut kelapa sawit dan melalui pengamatan morfologi diketahui termasuk spesies *Aspergillus sydowii*. Hasil skrining aktivitas antibakteri menunjukkan aktivitas terhadap *P. aeruginosa* dari ekstrak fraksi diklorometana hasil kultivasi *axenic*. Visualisasi KLT awal menunjukkan keberadaan komponen alkaloid pada fraksi diklorometana dan komponen peptida pada fraksi air. Uji MIC menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* pada fraksi metanol dengan nilai 0,5 mg/mL. Analisis data LC-MS/MS menunjukkan profil senyawa antibakteri yaitu golongan notoamida yang termasuk alkaloid indol terprenilasi dan aspergilon A yang memiliki aktivitas antifouling dan antikanker.

Kata kunci: Endofit mangrove, serabut sawit, *Aspergillus*, antibakteri.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MANGROVE ENDOPHYTE FUNGI 22PLP1-F1'S BIOACTIVE COMPOUND ON PALM FIBER WASTE AS ANTIBACTERIA AGAINST RESISTANT PATHOGEN

By

A. Whisnu Shakthi Al Ghozali

The secondary metabolites of mangrove endophytic fungi have the potential to be a source of antibacterial bioactives. The objective of this study is to cultivate mangrove endophytic fungi on palm fiber waste media, assess their antibacterial activity, and analyze their compound profile. Isolate 22PLP1-F1 was cultured on three different media, after which its morphology was observed. Single isolates were cultivated in the One Strain Many Compounds (OSMAC) method using palm fiber and pathogenic bacteria for 14 days. The cultivated biomass was extracted with dichloromethane: methanol (1:1) and partitioned with dichloromethane : aquadest (1:3). The extracts were screened for antibacterial activity using the 96-well plate microtiter method. Then, the extract components were evaluated using a thin-layer chromatography (TLC) assay. The active extract was further purified by open column chromatography, tested for minimum inhibitory concentration (MIC), and analyzed by TLC to confirm the bioactive components. The active fraction was characterized using LC-MS/MS with Masslynx 4.1 and SIRIUS 6.2.2 to identify the profile of bioactive compounds. In this study, isolate 22PLP1-F1 was successfully cultured in palm fiber media, and morphological observations revealed that it belongs to the *Aspergillus sydowii* species. Screening results for antibacterial activity showed activity against *P. aeruginosa* in the dichloromethane fraction of extracts from axenic cultivation. Preliminary TLC visualization revealed alkaloid components in the dichloromethane fraction and peptide components in the water fraction. The MIC test revealed antibacterial activity against *P. aeruginosa* in the methanol fraction, with an MIC value of 0.5 mg/mL. LC-MS/MS analysis revealed the antibacterial compound profile were from notoamide group, which belongs to prenylated indole alkaloids, and aspergilon A, which exhibits antifouling and anticancer properties.

Keywords: Endophytic mangrove, palm fiber, *Aspergillus*, antibacterial.

**INVESTIGASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT MANGROVE
22PLP1-F1 PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA SAWIT
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

Oleh

A. WHISNU SHAKTHI AL GHOZALI

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



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

Judul Penelitian : INVESTIGASI SENYAWA BIOAKTIF
FUNGSI ENDOFIT MANGROVE 22PLP1-F1
PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA
SAWIT SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP PATOGEN RESISTEN

Nama Mahasiswa : A. Whisnu Shakthi Al Ghozali

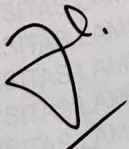
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011014

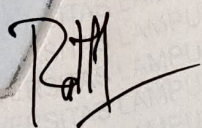
Program Studi : S1 Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing


Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195809221988111001


Dr. Eng. Ni Luh Gede R. Juliasih, M.Si.
NIP. 197707132009122002

2. Ketua Jurusan Kimia

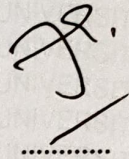

Prof. Dr. Mita Riliyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

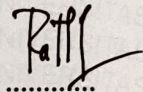
Ketua

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



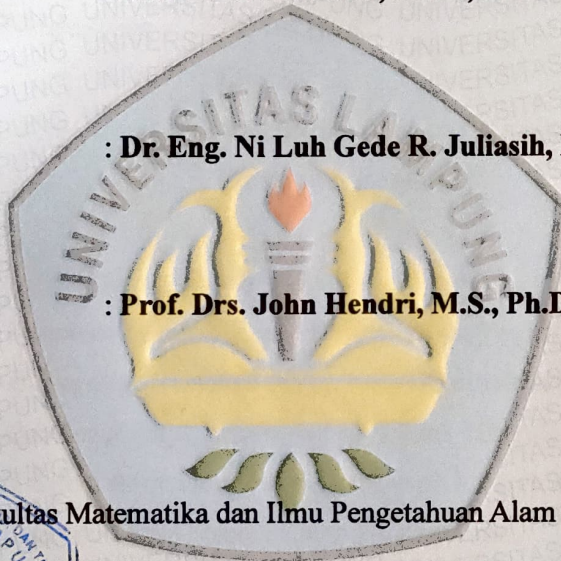
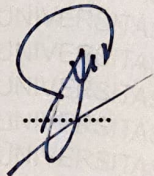
Sekretaris

: Dr. Eng. Ni Luh Gede R. Juliasih, M.Si.



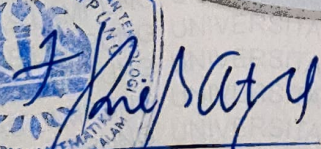
Anggota

: Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 23 Juli 2025

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : A. Whisnu Shakthi Al Ghozali
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011014
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul **“Investigasi Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1 pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten”** adalah benar karya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Bandar Lampung, 23 Juli 2025
Menyatakan,



A. Whisnu Shakthi Al Ghozali
NPM. 2117011014

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap A. Whisnu Shakthi Al Ghozali, lahir di Metro, 29 Maret 2003. Penulis merupakan putra kedua dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Giartono dan Ibu Asih Yuliarni. Saat ini penulis bertempat tinggal di Jl. Ki Hajar Dewantara, Kelurahan Banjarrejo, Kecamatan Batanghari, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung.

Penulis memulai pendidikan formal di Taman Kanak-kanak (TK) Aisyiyah Iringmulyo, Metro pada tahun 2008 hingga 2009, kemudian melanjutkan pendidikan di Madrasah Ibtidaiyah Negeri (MIN) 1 Metro pada tahun 2009 hingga 2015. Pada tahun 2015 penulis melanjutkan pendidikan di Madrasah Tsanawiyah (MTs) Negeri 1 Lampung Timur dan lulus pada tahun 2018, kemudian melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Metro dan lulus pada tahun 2021. Pada tahun 2021 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Universitas Lampung, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis tidak hanya aktif pada akademik, tetapi juga aktif berorganisasi dimulai sebagai kader muda Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) FMIPA Unila periode 2021, anggota biro kesekretariatan Himaki FMIPA Unila periode 2022, anggota bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia (SPIK) Himaki FMIPA Unila 2023. Penulis diberi amanah sebagai kepala bidang hubungan masyarakat Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila periode 2023, dan menjadi anggota komisi legislasi Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) FMIPA Unila periode 2024.

Penulis pernah mengikuti berbagai kegiatan kemahasiswaan, diantaranya seperti Pembinaan Mahasiswa (PM) Himaki FMIPA Unila periode 2021, peserta Karya Wisata Ilmiah (KWI) BEM FMIPA Unila di Desa Gebang, Kecamatan Padang Cermin, Pesawaran, Provinsi Lampung pada tahun 2021 Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Dasar (LKMM-TD) Himaki 2022, dan Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Menengah (LKMM-TM) BEM FMIPA Unila 2022. Penulis juga pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I tahun 2024 pada bulan Januari sampai Maret di Desa Rejomulyo, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan. Pada bulan Maret sampai Mei 2024, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Unit Pelayanan Akademik Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPA-LTSIT) Universitas Lampung. Pada bulan Desember 2024 sampai Mei 2025 penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di UPA-LTSIT Universitas Lampung yang diberi Judul “Investigasi Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1 pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten”.

MOTTO

“Yield thee unto Allah, and thou shalt gain bliss without end”

(A. Whisnu Shakthi Al Ghozali)

“So, surely with hardship comes ease. Surely with [that] hardship comes [more] ease.”

(Q.S. Al-Insyirah: 5-6)

“Then which of your Lord’s favours will you [humans and jinn] both deny?”

(Q.S. Ar-Rahman: 13)

PERSEMBAHAN



*Alhamdulillahirabbil'alamin, dengan segala puja dan puji syukur
kepada Allah SWT, kupersembahkan karya ini sebagai bukti
rasa cinta dan tanggung jawabku kepada:*

*Ayah dan Ibuku
Bapak Giartono dan Ibu Asih Yuliarni
yang selalu mendukungku, mendoakanku, mendidikku,
membimbingku, dan mempercayaiiku dalam mengejar cita-cita.*

*Kakakku, teman-temanku, dan sahabat terbaikku
yang selalu mendorong punggungku dalam menyelesaikan karya ini*

*Segala hormat kepada
Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., Dr. Eng. Ni Luh Gede
Ratna Juliasih, S.Si., M.Si., dan Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D.,
serta seluruh Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah berdedikasi dalam
membimbing dan mendidikku hingga mencapai gelar sarjana.*

Almamater tercinta Universitas Lampung.

Diriku yang telah bertahan dan berjuang.

SANWACANA

Alhamdulillah robbil'alamin segala puji bagi Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Investigasi Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1 pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten”**. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, semoga kita diakui sebagai umatnya dan memperoleh syafaatnya, *Aamiin*.

Penulis menyadari bahwa dalam proses pengerjaan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari kesulitan dan rintangan, namun itu semua bisa terlewati berkat rahmat dan ridho Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, sebagai wujud rasa hormat dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Giartono dan Ibu Asih Yuliarni yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan selama penulis menyelesaikan pendidikan.
2. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing 1 penelitian atas bimbingan, arahan, serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan dan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku Dosen Pembimbing 2 penelitian atas semua dukungan dan masukkan kepada penulis selama penelitian dan pengerjaan skripsi.
4. Bapak Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D. selaku Dosen Pembahas penelitian atas kritik dan saran yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

5. Ibu Prof. Dr. Buhani, S.Pd., M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan kemudahan kepada penulis selama masa pendidikan.
6. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Unila.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Unila.
8. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama masa pendidikan.
9. Kakakku, Bima Afifuddin Al Ghozali yang selalu memberikan dukungan dengan caranya.
10. Aziza Ulma'rifah sebagai sahabat terbaik yang selalu mendorong, merangkul, dan menarik penulis dalam keterpurukan maupun kebahagiaan penyelesaian masa pendidikan.
11. Fendi Setiawan, S.Si., M.Si. sebagai Kakak Pembimbing penelitian yang selalu memberikan arahan, dukungan, dan motivasi selama proses penelitian sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
12. Teman-teman dan kakak-kakak UPA-LTSIT yang sudah berjuang menyelesaikan penelitian.
13. Teman-teman terdekat, Daffa, Sayyid, Govindo, Aditya, Alif, Harry, dan Anam atas kehangatan dan kebersamaan selama menempuh pendidikan.
14. *Al-Muharib* Rois 2023 yang telah mengajarkan arti kebersamaan dan tanggung jawab.
15. Sekretariat Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) FMIPA Unila yang telah menjadi tempat melepas penat, tempat di mana semua kebahagiaan dan kesedihan semester akhir dimulai.
16. Keluarga besar kimia angkatan 2021 atas pengalaman dan bekal yang telah diberikan.
17. ADS Research '21 atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas dukungan dan bantuannya.
19. Diri penulis sendiri yang telah memilih untuk bertahan dan berjuang, memilih untuk tetap berdiri dan maju menghadapi tantangan kehidupan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, Penulis menyampaikan permohonan maaf atas segala kekurangan tersebut. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 23 Juli 2025
Penulis,

A. Whisnu Shakthi Al Ghozali

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Resistensi Antibakteri	5
2.1.1 Jenis-jenis Resistensi Antibakteri	5
2.1.2 Mekanisme Resistensi Antibakteri	6
2.2 Patogen Resisten ESKAPE	7
2.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.3 Ekosistem Mangrove	9
2.4 Fungi Endofit Mangrove.....	10
2.5 Mekanisme Kerja Antibakteri Resisten	12
2.6 <i>One Strain Many Compound</i> (OSMAC)	13
2.7 Kultivasi.....	14
2.8 Ekstraksi.....	16
2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	16
2.10 Skrining Aktivitas Antibakteri	17
2.11 <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS).....	17
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.3 Prosedur Penelitian	20

3.3.1	Isolat Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1	20
3.3.2	Kultivasi, Ekstraksi, dan Partisi.....	21
3.3.4	Skrining Aktivitas Antibakteri	22
3.3.5	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	22
3.2.5	Pemurnian Senyawa Bioaktif	23
3.2.6	Karakterisasi	23
3.4	Pelaksanaan.....	24
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1	Isolat Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1	26
4.2	Kultivasi, Ekstraksi, dan Partisi.....	28
4.3	Skrining Aktivitas Antibakteri	31
4.4	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	33
4.5	Pemurnian Senyawa Bioaktif.....	36
4.6	Karakterisasi	38
V.	SIMPULAN DAN SARAN	41
5.1	Simpulan	41
5.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA.....	42
	LAMPIRAN.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme resistensi antibakteri (Abushaheen <i>et al.</i> , 2020).....	7
2. Patogen MDR ESKAPE (Idris <i>and</i> Nadzir, 2023).....	8
3. Struktur senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroba endofit seperti (1) <i>camptothecin</i> , (2) coumarin 120, (3) <i>phloretin</i> , (4) <i>genistein</i> , (5) <i>rosavin</i> , (6) <i>salidroside</i> , (7) <i>citrinin</i> , (8) <i>emodin</i> , (9) <i>xylarenone</i> , dan (10) <i>sphaeropsidin</i> ..	10
4. Mekanisme antibakteri (Silva <i>et al.</i> , 2022).	12
5. Pendekatan One Strain Many Compound (OSMAC) (Zhang <i>et al.</i> , 2024).	14
6. Isolat fungi endofit mangrove kode isolat 22PLP1-F1 hasil peremajaan pada media (a)MEA, (b) PDA, dan (c) PFA 1 %.....	27
7. Identifikasi morfologi mikroskopis fungi endofit mangrove kode isolat 22PLP1-F1 hasil peremajaan pada media (A) MEA, (B) PDA, dan (C) PFA 1 % dengan perbesaran 100× dan 400×.....	28
8. Hasil kultivasi isolat 22PLP1-F1 pada media serabut kelapa sawit (A) hari ke-0 (B) hari ke-7 (C) hari ke-14.	30
9. Hasil skrining aktivitas antibakteri ekstrak isolat 22PLP1-F1 terhadap (I) <i>S. aureus</i> dan (II) <i>P. aeruginosa</i>	32
10. Hasil visualisasi KLT fraksi DCM kultivasi (a) <i>axenic</i> , (b) <i>co-cultivation S. aureus</i> , (c) <i>co-cultivation P. aeruginosa</i> , (d) blanko <i>axenic</i> , (e) blanko <i>co-cultivation S. aureus</i> , (f) blanko <i>co-cultivation P. aeruginosa</i> , (g) blanko media ME, dan (h) kultivasi media ME dengan visualisasi (A) UV λ 254 nm, (B) UV λ 366 nm, (C) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, (D) Dragendroff, dan (E) Ninhidrin.	34
11. Hasil visualisasi KLT fraksi air kultivasi (a) <i>axenic</i> , (b) <i>co-cultivation S. aureus</i> , (c) <i>co-cultivation P. aeruginosa</i> , (d) blanko <i>axenic</i> , (e) blanko <i>co-cultivation S. aureus</i> (f) blanko <i>co-cultivation</i>	

<i>P. aeruginosa</i> , (g) blanko media ME, dan (h) kultivasi media ME dengan visualisasi (A) UV λ 254 nm, (B) UV λ 366 nm, (C) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, (D) Dragendorff, dan (E) Ninhidrin.	35
12. Hasil uji MIC fraksi hasil kromatografi kolom terhadap (I) <i>S. aureus</i> dan (II) <i>P. aeruginosa</i>	37
13. Hasil analisis KLT (a) ekstrak kasar fraksi DCM dan (b) fraksi aktif MeOH hasil kolom dengan visualisasi (A) UV 254 nm, (B) UV 366 nm, (C) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, (D) Dragendorff, dan (E) Ninhidrin.	38
14. Kromatogram LC fraksi aktif isolat 22PLP1-F1 pada media serabut kelapa sawit dan rumus struktur dari (1) notoamida I, (2) notoamida U, (3) notoamida G, dan (4) aspergilon A.	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Berat ekstrak kasar isolat 22PLP1-F1 hasil kultivasi pada media serabut kelapa sawit.	31
2. Perhitungan nilai Rf hasil KLT ekstrak fraksi DCM.....	34
3. Perhitungan nilai Rf hasil KLT ekstrak fraksi air.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media Peremajaan Isolat Fungi Endofit Mangrove 22PLP1F1.	51
2. Pembuatan Air Laut Buatan	51
3. Pembuatan Reagen Spesifik.....	51

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Antimicrobial Resistance (AMR) saat ini telah menjadi sebuah ancaman yang serius terhadap kesehatan, ekonomi, dan sosial di seluruh dunia (Essack *et al.*, 2017). Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), lebih dari dua juta orang di Amerika Serikat jatuh sakit akibat AMR tiap tahunnya, menyebabkan setidaknya ada 23.000 kasus kematian (Dadgostar, 2019). Berdasarkan laporan (Kristanto *and* Koven, 2019), kasus resistensi antimikroba di Indonesia akan terus meningkat paling tidak sebanyak 6.953 kasus tiap tahunnya.

World Health Organization (WHO) telah mengelompokkan bakteri patogen *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan spesies *Enterobacter* (ESKAPE) sebagai bakteri patogen penyebab peningkatan kasus AMR terbesar di dunia (Abukhalil *et al.*, 2024). Mekanisme bakteri patogen ESKAPE dalam mengembangkan *multi-drugs resistant* (MDR) digolongkan menjadi tiga cara yaitu inaktivasi obat melalui pembelahan *irreversible*, modifikasi sisi aktif tempat antibiotik terikat, dan penurunan permeabilitas untuk mengurangi jumlah obat masuk (Mulani *et al.*, 2019). Oleh karena itu, menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*, dan *World Health Organization* diperlukan upaya untuk melawan peningkatan kasus resistensi ini, salah satunya adalah penemuan dan pengembangan senyawa antibakteri baru (Sader *et al.*, 2019).

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan senyawa antibakteri, terutama yang bersumber dari fungi endofit. Banyak penelitian yang

membuktikan bahwa fungi endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antikanker, antioksidan, immunosupresif, dan terutama sebagai antibiotik (Strobel, 2018). Senyawa bioaktif yang paling banyak dihasilkan yaitu golongan senyawa bahan alam, termasuk golongan alkaloid (Jha *et al.*, 2023).

Salah satu sumber fungi endofit yang banyak menarik perhatian yaitu mangrove. Mangrove berada pada posisi kedua tentang kompleksitas ekosistem dari kelompok ekosistem laut dalam kemampuannya untuk dapat hidup di lingkungan segar maupun asin. Kemampuan hidup mangrove yang kompleks ini juga membuat fungi endofit mangrove sebagai penghasil senyawa bioaktif terbesar kedua di antara fungi laut lainnya (Deshmukh *et al.*, 2020). Fungi endofit mangrove telah terbukti memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa bioaktif antibakteri. Penelitian yang telah dilakukan oleh Setiawan *et al.* (2022) melaporkan bahwa fungi laut *Aspergillus nomiae* A12-RF yang dikultivasi pada media beras memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen *Staphylococcus aureus* dengan *minimum inhibition concentration* (MIC) $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa fungi endofit mangrove *Aspergillus sydowii* yang telah dikultivasi pada media kulit udang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* seperti yang dilaporkan pada hasil kultivasi media beras (Setiawan *et al.*, 2025).

Meskipun fungi endofit mangrove memiliki potensi yang besar sebagai sumber senyawa bioaktif baru, terdapat tantangan dalam produksi senyawa bioaktif dalam kondisi laboratorium. Mikroorganisme seperti fungi memiliki *silent gen* yang bersifat tidak aktif untuk menghasilkan senyawa bioaktif dalam kondisi pertumbuhan standar laboratorium (Wei *et al.*, 2021). Untuk menghadapi tantangan ini, diperlukan metode yang dapat memancing aktivitas gen *silent* tersebut. Pendekatan *one strain many compound* (OSMAC) menawarkan metode untuk mengaktifkan gen *silent* ini melalui pengubahan parameter kultivasi seperti komposisi media, suhu, pH, atau penambahan zat aditif, sehingga memungkinkan fungi untuk dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang biasanya tidak diproduksi (Gao *et al.*, 2020). Metode pendekatan OSMAC yang berpotensi meningkatkan

produksi senyawa bioaktif dari fungi endofit adalah secara *co-cultivation* dengan biomassa kelapa sawit sebagai media pertumbuhan. *Co-cultivation* merupakan metode kultivasi yang menggabungkan dua atau lebih jenis mikroorganisme dalam satu media pertumbuhan yang kemudian bersaing untuk bertahan hidup sehingga meningkatkan produksi senyawa bioaktif dari mikroba target (Hamed *et al.*, 2024). Industri kelapa sawit menghasilkan limbah padat yang disebut biomassa yang terdiri atas tandan kosong, cangkang, dan serabut kelapa sawit (Triyono *et al.*, 2019). Biomassa kelapa sawit mengandung lignin, hemiselulosa, dan selulosa (Grgas *et al.*, 2023). Senyawa-senyawa ini merupakan komponen penyedia substrat yang penting bagi pertumbuhan fungi (Silva *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak dari fungi endofit mangrove dengan kode isolat 22PLP1-F1 yang berasal dari ekosistem mangrove Petengoran, Pesawaran bagian daun memiliki aktivitas yang paling unggul dibandingkan isolat lainnya. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan kajian terkait senyawa bioaktif dari fungi endofit mangrove 22PLP1-F1 sebagai antibakteri terhadap bakteri resisten *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal yang menjadi pembeda dari penelitian lainnya yaitu fermentasi dilakukan dengan metode *solid state fermentation* (SSF) dengan menerapkan *one strain many compound* (OSMAC) secara *co-cultivation* menggunakan media serabut kelapa sawit sebagai media kultivasi fungi endofit mangrove untuk mendapatkan senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kemampuan pertumbuhan kultur fungi pada media limbah serabut kelapa sawit.
2. Mengevaluasi bioaktivitas ekstrak fungi endofit mangrove sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen resisten.
3. Mengidentifikasi profil senyawa bioaktif dari ekstrak fungi endofit mangrove isolat 22PLP1-F1 sebagai antibakteri yang difermentasi pada serabut kelapa

sawit menggunakan metode kromatografi *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy/Mass Spectroscopy* (LC-MS/MS).

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal terkait efektivitas senyawa bioaktif yang dihasilkan melalui kultivasi fungi endofit mangrove *Aspergillus sydowii* 22PLP1-F1 pada media serabut kelapa sawit sebagai antibakteri terhadap patogen resisten *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan menjadi dasar teori bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmakologi dan bioteknologi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Resistensi Antibakteri

Resistensi antibakteri merupakan keadaan di mana bakteri yang dapat menyebabkan penyakit memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dari pengaruh obat-obatan antibiotik. Kasus resistensi antibakteri menjadi masalah yang serius karena dapat menyebabkan kerusakan yang besar tak hanya kepada kesehatan, tetapi juga terhadap ekonomi. Total kasus kematian secara global akibat resistensi antibakteri mencapai 700,000 jiwa tiap tahunnya. Penyebab utama hal ini adalah penggunaan antibiotik yang tidak sesuai anjuran sehingga menyebabkan perkembangan resistensi terhadap pengobatan konvensional (Eleraky *et al.*, 2020).

Dinamika biologis bakteri yang luar biasa yang disebabkan oleh plastisitas fenotipik dan kemampuan berkembang biaknya mendukung perkembangan mekanisme resistensi antibakteri baru sebagai akibat dari penggunaan obat-obatan antibakteri secara tidak tepat, hasilnya makin banyak terjadi kemunculan kasus *multi-drug resistance* (MDR), dan bahkan hingga terjadi adanya *extensive resistance* (XDR) dan *pan-resistance* (PDR) terhadap antibakteri. Keadaan ini diperparah karena adanya pola penyebaran dari bakteri MDR dan XDR, bersamaan dengan lambatnya pengembangan antibakteri baru memberikan batasan yang cukup besar terhadap pilihan penanganan pasien terinfeksi (Asenjo *et al.*, 2021).

2.1.1 Jenis-jenis Resistensi Antibakteri

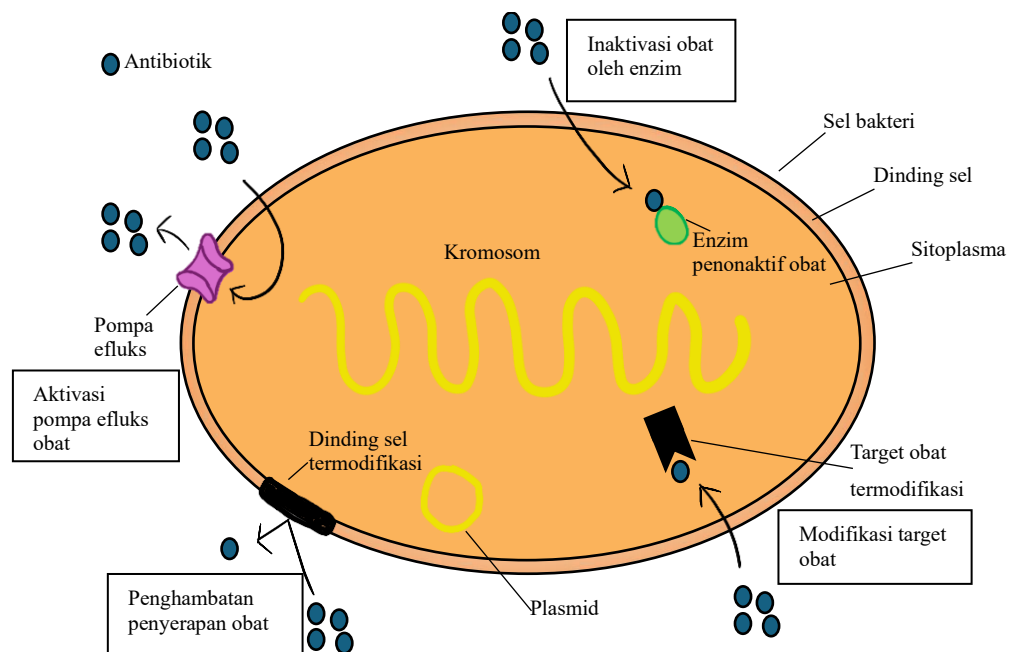
Keberadaan agen antimikroba bakteriostatik dapat memungkinkan pertumbuhan bakteri resisten pada konsentrasi yang seharusnya menghambat pertumbuhannya.

Resistensi terhadap antibiotik sering muncul akibat dari mutasi atau adanya perpindahan elemen yang memiliki sifat resisten terhadap antibakteri. Namun, resistensi ini juga dapat bersifat intrinsik yang berasal dari sifat bawaan sel. Resistensi antibakteri umumnya dikelompokkan menjadi tiga kategori: yang pertama adalah resistensi intrinsik, resistensi jenis ini diakibatkan dari sifat khusus bakteri yang membuatnya resisten terhadap antibakteri tertentu, salah satu contohnya yaitu pengurangan permeabilitas pada membran luar. Yang kedua yaitu *accuired resistance*, merupakan resistensi yang terjadi ketika suatu bakteri menjadi resisten akibat mutasi atau pengaruh dari material genetik baru yang berasal dari luar, contohnya resistensi dari kromosom yang dapat menyebabkan penurunan permeabilitas perubahan target obat dalam sel. Yang ketiga yaitu *adaptive drug resistance*, merupakan resistensi yang disebabkan oleh perubahan lingkungan seperti pH, konsentrasi ion, dan kondisi nutrisi sehingga terjadi perubahan pada bakteri menyebabkan antibakteri tidak dapat bekerja. Yang keempat yaitu *cross resistance*, terjadi ketika suatu bakteri yang resisten terhadap suatu antibakteri menyebabkan adanya resistensi terhadap antibakteri lain yang memiliki cara kerja yang sama. Yang terakhir yaitu *multi-drug resistance* (MDR), *extensive drug resistance* (EDR), dan *pandrug resistance* (PDR), MDR terjadi ketika suatu bakteri memiliki resistensi setidaknya terhadap 3 atau lebih agen antibakteri, EDR terjadi ketika suatu bakteri resisten terhadap seluruh kecuali satu atau dua agen antibakteri, dan PDR terjadi ketika suatu bakteri resisten terhadap semua agen antibakteri (Belay *et al.*, 2024).

2.1.2 Mekanisme Resistensi Antibakteri

Agen antibakteri memiliki beberapa cara untuk menghambat atau bahkan membunuh patogen resisten. Oleh karena itu, patogen resisten diketahui pula memiliki berbagai cara dalam mengembangkan resistensi terhadap agen antibakteri. Beberapa mekanisme patogen resisten dalam mengembangkan resistensi terhadap agen antibakteri adalah: yang pertama yaitu inaktivasi/modifikasi antibiotik, contohnya patogen resisten akan menghasilkan enzim β -laktamase yang akan menghidrolisis ikatan amida pada antibiotik β -

laktam sehingga antibiotik ini menjadi tidak aktif dan tidak bisa menjalankan fungsinya yaitu mengikatkan diri pada *penicillin-binding proteins* (PBPs) untuk mencegah ikatan silang dari rantai glikan dalam dinding sel bakteri. Yang kedua yaitu alterasi/pengubahan titik target antibiotik, contohnya patogen resisten akan mengubah struktur PBPs untuk mengurangi interaksi antara antibiotik β -laktam dengan PBPs. Dan yang ketiga yaitu melalui pengurangan permeabilitas, melalui mekanisme ini patogen resisten mampu mengeliminasi agen antibakteri sehingga tidak masuk ke dalam sel bakteri (Abushaheen *et al.*, 2020).

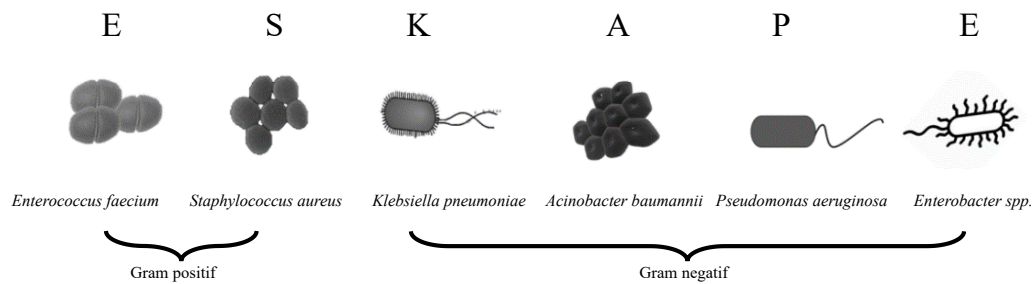


Gambar 1. Mekanisme resistensi antibakteri (Abushaheen *et al.*, 2020).

2.2 Patogen Resistensi ESKAPE

Patogen resisten muncul kepada bakteri yang mendapatkan plasmid melalui transfer gen resisten. Cara patogen resisten untuk terhindar dari pengaruh antibiotik adalah melalui pengembangan beberapa mekanisme khusus seperti penurunan permeabilitas, pengeluaran enzim degradasi, dan alterasi obat (Bharadwaj *et al.*, 2022). MDR terjadi ketika suatu bakteri memiliki resistensi terhadap tiga atau lebih agen antibakteri. Dari banyaknya patogen MDR, kelompok patogen ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*,

Klebsiella pneumoniae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp.) menjadi penyebab kekhawatiran terbesar karena kemampuan resistensinya terhadap antibiotik dan obat lainnya. Bakteri-bakteri ini dikelompokkan lebih lanjut berdasarkan kemampuan resistensinya meliputi *low-resistance*, *multi-drug resistance* dan *pan-resistance*. Gambar 1 menunjukkan bentuk patogen ESKAPE dan juga jenis bakterinya dimana *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, dan *P. aeruginosa* termasuk golongan bakteri Gram-negatif sementara *S. aureus*, *E. faecium*, dan *E. faecalis* termasuk golongan bakteri Gram-positif (Idris and Nadzir, 2023). Patogen yang menjadi objek penelitian dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.



Gambar 2. Patogen MDR ESKAPE (Idris and Nadzir, 2023).

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri golongan Gram-positif yang memiliki bentuk kokus (globular). Bakteri ini sering ditemui di mikrobiota pada kulit manusia dan biasanya hanya berbahaya pada individual yang memiliki masalah imun. *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) merupakan strain khusus patogen *S. aureus* yang telah berkembang sehingga memiliki resistensi terhadap antibiotik β -laktam. MRSA menjadi salah satu penyebab peningkatan kasus infeksi akibat resistensi antibiotik terutama infeksi endokarditis dan infeksi alat prostetik (Bhatia et al., 2021).

2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri golongan Gram-negatif yang memiliki bentuk batang, memiliki flagela, dan hidup dalam lingkungan yang lembab baik dalam air maupun tanah. (Ghssein and Ezzeddine, 2022). *P. aeruginosa* dikenal sebagai bakteri oportunistis yang akan menyerang seseorang dengan keadaan imun yang sedang turun. *P. aeruginosa* memiliki kemampuan adaptasi yang hebat dan telah ditemukan dalam banyak jenis lingkungan seperti tubuh manusia, tanah, air, lingkungan yang tercemar oli, lingkungan rumah sakit, dan saluran pembuangan. Namun, hingga sekarang masih belum diketahui sumber utama dimana bakteri ini dapat ditemukan (Crone *et al.*, 2020). *P. aeruginosa* menjadi penyebab utama infeksi nosokomial yang menginfeksi pasien selama masa perawatan di rumah sakit, contoh infeksi yang umum disebabkan oleh *P. aeruginosa* adalah pneumonia dan infeksi pada korban luka bakar (Reynolds and Kollef, 2021).

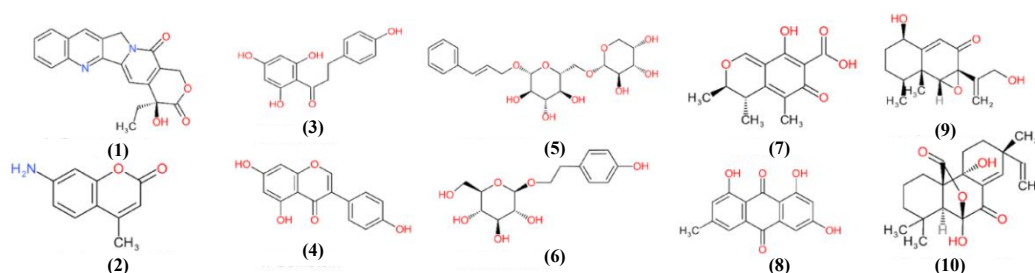
2.3 Ekosistem Mangrove

Ekosistem mangrove merupakan hutan pantai yang tersebar di antara daratan dan lautan di daerah tropis dan sub-tropis yang menutupi sekitar 137,760 km²-152,360 km² dari permukaan dunia. Pohon mangrove telah beradaptasi terhadap lingkungan hidup yang ekstrem sehingga menghasilkan kemampuan hidup yang unik terhadap kadar garam yang tinggi, tanah berair, tanah anaerobik, dan lingkungan ekstrem lainnya yang menyulitkan penyebaran biji dan akar (Onyena and Sam, 2020). Hutan mangrove menunjukkan gabungan pohon dan semak yang dapat mempengaruhi ekologi alam dari konsentrasi oksigen tanah dan kadar air asinnya (Akram *et al.*, 2023). Hutan mangrove menjadi ekosistem yang berperan besar bagi kehidupan banyak makhluk hidup. Tempat ini menjadi tempat berkembang biak bagi banyak fauna laut dan juga sebagai tempat berkumpulnya nutrisi yang ada di laut. Hutan mangrove juga banyak berperan dalam melawan perubahan iklim dan pengurangan dampak bencana alam (Bimrah *et al.*, 2022). Mangrove yang hidup dalam lingkungan ekstrem menyebabkan tanaman ini tahan terhadap berbagai jenis senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, kuinon,

terpenoid, dan masih banyak lagi. Karakteristik dari mangrove yang unik ini memberikan informasi terkait keragaman biologis yang hidup dalam ekosistem mangrove, salah satunya yaitu fungi endofit yang telah banyak diteliti sebagai penghasil senyawa bioaktif metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antivirus dan antimikroba (Bibi *et al.*, 2020).

2.4 Fungi Endofit Mangrove

Mikroba endofit merupakan golongan mikroba yang hidup di dalam jaringan sehat tumbuhan tanpa menimbulkan efek buruk atau penyakit kepada tumbuhan inang. Mikroba endofit ini lama-kelamaan membentuk ikatan dengan tumbuhan inang yang saling menguntungkan keduanya. Mikroba endofit umumnya memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya seperti senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, poliketida, dan terpenoid yang ditunjukkan pada Gambar 2 (Raimi *and* Adeleke, 2021).



Gambar 3. Struktur senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroba endofit seperti (1) *camptothecin*, (2) *coumarin 120*, (3) *phloretin*, (4) *genistein*, (5) *rosavin*, (6) *salidroside*, (7) *citrinin*, (8) *emodin*, (9) *xylarenone*, dan (10) *sphaeropsidin*.

Senyawa-senyawa bioaktif ini dihasilkan melalui komunikasi yang dilakukan antara mikroba dan tumbuhan. Bentuk komunikasi dua arah ini dimulai ketika mikroba yang menerima respon dari senyawa sinyal yang dihasilkan oleh tumbuhan lalu menghasilkan senyawa bioaktif yang selanjutnya dideteksi oleh tumbuhan, komunikasi ini dilakukan terus-menerus sehingga senyawa bioaktif juga terus-menerus dihasilkan. Senyawa-senyawa ini dihasilkan sebagai upaya bertahan hidup terhadap ancaman di lingkungan, terutama dari mikroba patogen. Fungi termasuk ke dalam golongan mikroba endofit dan dapat ditemukan di

seluruh bagian tumbuhan seperti batang, tangkai, akar, daun, dan lain-lain (Tripathi *et al.*, 2022).

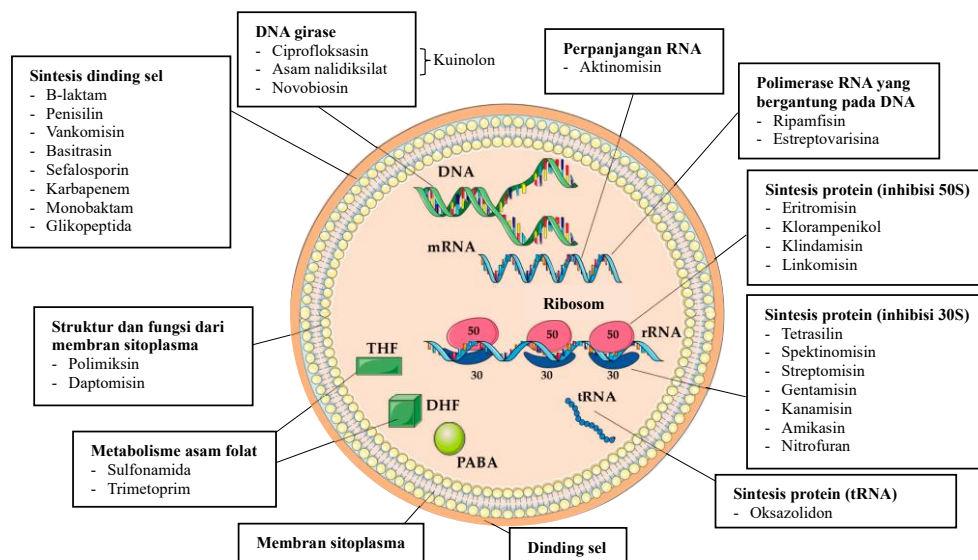
Selama 50 tahun terakhir, sebanyak 1692 spesies fungi laut telah berhasil diketahui dan diidentifikasi. Fungi endofit mangrove berperan besar dalam mendukung jumlah ini, dari total 850 fungi mangrove yang telah diketahui, 649 di antaranya telah diketahui morfologi dan filogenik molekulnya, dan sisanya hanya diketahui informasi morfologinya (Devadatha *et al.*, 2021). Fungi endofit mangrove memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya, bahkan dalam jumlah yang lebih besar. Fungi endofit mangrove memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa bioaktif dan enzim baru karena kemampuannya untuk beradaptasi terhadap lingkungan yang ekstrem. Siklus hidup mereka yang pendek juga memungkinkan produksi senyawa bioaktif dalam jumlah yang besar dibandingkan tumbuhan inangnya (Sopalun *et al.*, 2021).

Fungi endofit mangrove telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibiotik terhadap patogen resisten. Hasil penelitian oleh Zhou *et al.* (2022) melaporkan bahwa isolat fungi endofit mangrove yang telah diisolasi dari mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Rhizophora mucronata* dan difermentasi dalam media beras memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen resisten seperti *Pseudomonas adaceae* (PA), bakteri Gram-positif *Enterococcus faecalis* (EF), dan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Hasil studi (Bahri *et al.*, 2024) menunjukkan bahwa fungi endofit mangrove yang diisolasi dari hutan mangrove Gebang Petengoran dan area pantai Dewi Mandapa, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung, Indonesia dan dikultivasi dalam media beras memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen resisten *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, analisis menggunakan FTIR, TIC, dan LC-MS memberikan informasi bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah Triazin, senyawa golongan alkaloid. Hasil penelitian Chi *et al.* (2023) menunjukkan bahwa fungi endofit yang diisolasi dari mangrove yaitu *Aspergillus tamarii* MA-21 dan *Aspergillus insuetus* SD-512 memiliki aktivitas antibakteri

terhadap bakteri akuatik termasuk *Edwardsiella tarda*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio vulnificus*, dan *Staphylococcus aureus*

2.5 Mekanisme Kerja Antibakteri Resisten

Senyawa bioaktif memiliki berbagai cara kerja untuk menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini diperlukan untuk melawan bakteri yang terus beradaptasi dan bermutasi dalam melawan antibiotik. Mekanisme agen bakteri dalam melawan pertumbuhan bakteri tergolong ke dalam dua kategori utama, yaitu dengan menghancurkan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Gambar 4. menunjukkan mekanisme agen bakteri dalam melawan pertumbuhan bakteri seperti melalui interaksi dengan dinding sel, melalui membran sel, dalam sintesis protein, menghambat sintesis DNA dan RNA, dan intervensi metabolisme asam folat (Silva *et al.*, 2022).



Gambar 4. Mekanisme antibakteri (Silva *et al.*, 2022).

Alkaloid merupakan senyawa alami yang mengandung nitrogen dengan berat molekul rendah, dapat disintesis dari asam amino, dan aktif secara biologis. Alkaloid dapat ditemukan di semua makhluk hidup meliputi hewan, tumbuhan,

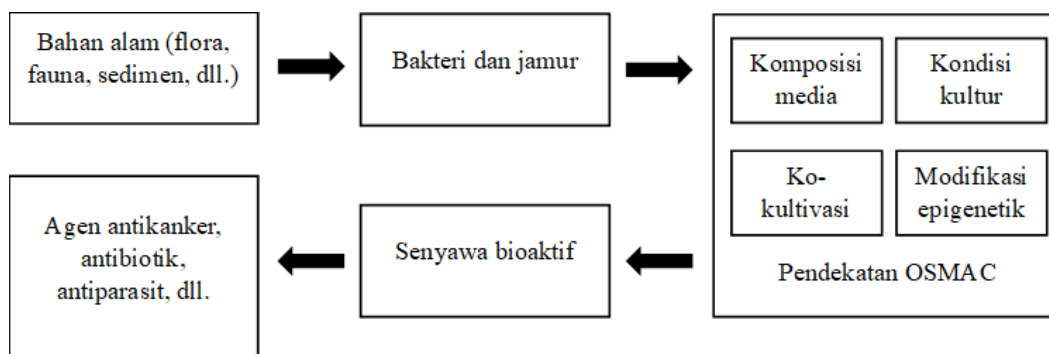
bakteri, dan fungi. Alkaloid terbagi ke dalam tiga golongan, yaitu alkaloid sejati yang memiliki sebuah cincin heterosiklik dengan nitrogen, protoalkaloid yang memiliki ion N hasil turunan asam amino dan bukan bagian dari cincin heterosiklik, dan pseudoalkaloid yang bukan berasal dari asam amino (Alves De Almeida *et al.*, 2017).

Telah banyak laporan yang menyatakan kemampuan alkaloid sebagai agen antibakteri. Hal ini berkaitan dengan struktur alkaloid yang unik sehingga memungkinkan terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri melalui berbagai mekanisme. Cara kerja alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah melalui beberapa mekanisme, yaitu dengan menghambat sintesis protein, merusak dinding sel, menghambat pompa efluks, menghambat metabolisme, dan mekanisme lainnya (Yan *et al.*, 2021). Hasil studi Jiang *et al.* (2019) menunjukkan alkaloid yang diisolasi dari endofit *Fusarium proliferatum* yaitu asam indol-3-asetat, metil indol-3-asetat, dan bassiatin memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen *E. coli* dengan MIC di atas 100 µg/mL. Fungi endofit mangrove *Penicillium* sp. yang diperoleh di pelabuhan Dongzai, Provinsi Hainan dilaporkan menghasilkan lima senyawa bioaktif termasuk satu senyawa baru yang diberi nama GKK1032C memiliki aktivitas terhadap patogen *methicillin-resistant S. aureus*, dengan nilai MIC yaitu 1.6 µg/mL. Hasil studi ini menunjukkan potensi senyawa alkaloid hasil metabolisme sekunder dari fungi endofit memiliki potensi yang besar sebagai sumber senyawa antibiotik baru. (Eshboev *et al.*, 2024).

2.6 One Strain Many Compound (OSMAC)

Studi genomik dan metabolomik telah menunjukkan tentang potensi mikroorganisme untuk melakukan biosintesis oleh enzim yang membentuk *biosynthetic gene clusters* (BGCs). untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Namun, produksi BGCs dalam kondisi standar laboratorium tidak mampu mengungkapkan BGCs tersembunyi yang sering dimiliki oleh mikroorganisme. Pendekatan *One Strain Many Compound* (OSMAC) menjadi solusi dari masalah tersebut. Pendekatan OSMAC merupakan strategi yang

dilakukan dengan mengubah kondisi kultur mikroorganisme sehingga BGCs yang sebelumnya tersembunyi menjadi aktif dan memungkinkan untuk dilakukan ekstraksi senyawa metabolit aktif. Pendekatan OSMAC telah berhasil menjadi solusi terbaik dalam penemuan senyawa bioaktif dari mikroorganisme yang beragam, seperti peptida siklik, alkaloid, poliketida, dan terpenoid (Zhang *et al.*, 2024).



Gambar 5. Pendekatan One Strain Many Compound (OSMAC) (Zhang *et al.*, 2024).

2.7 Kultivasi

Kultivasi merupakan metode yang digunakan untuk mengisolasi dan memperbanyak koloni mikroorganisme yang ditumbuhkan dalam kondisi laboratorium. Metode ini dilakukan agar mikroorganisme yang dikultivasi dapat dipelajari sehingga memungkinkan pengembangan potensi mikroorganisme dalam berbagai aplikasi, salah satunya yaitu sebagai sumber senyawa bioaktif baru (Hahn *et al.*, 2019).

Co-cultivation merupakan metode kultivasi yang menggabungkan dua atau lebih jenis mikroorganisme dalam satu media pertumbuhan untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder dari mikroba target. Berbagai mikroorganisme ini ditumbuhkan bersama untuk mengaktifkan *biosynthetic gene clusters* (BGCs) mikroorganisme yang berpotensi menghasilkan senyawa baru. Metode *co-cultivation* dibagi berdasarkan jenis mikroorganisme yang dikultur

bersamaan, yaitu fungi-fungi, fungi-bakteri, dan bakteri-bakteri (Hashem *et al.*, 2023).

Solid State Fermentation (SSF) adalah metode kultivasi dimana mikroorganisme yang melakukan fermentasi ditumbuhkan pada substrat padat dan memiliki kadar air yang rendah (Verduzco-Oliva and Gutierrez-Urbe, 2020). SSF memiliki keunggulan sebagai metode untuk memanfaatkan limbah menjadi sesuatu yang memiliki nilai guna seperti senyawa bioaktif (Chilakamarry *et al.*, 2022). Industri kelapa sawit yang banyak menghasilkan banyak jenis limbah termasuk limbah padat seperti serabut kelapa sawit, berpotensi untuk dijadikan sebagai media SSF pada mikroorganisme.

Industri minyak kelapa sawit menghasilkan limbah padat dengan jumlah yang sangat besar tiap tahunnya. Limbah padat kelapa sawit biasa disebut biomassa yang terdiri atas tandan kosong, cangkang, dan serabut kelapa sawit (Triyono *et al.*, 2019). Biomassa kelapa sawit mengandung lignin, hemiselulosa, dan selulosa yang menjadi senyawa pembentukan sel kelapa sawit (Grgas *et al.*, 2023).

Komponen-komponen ini menjadi penyedia nutrisi serta substrat yang penting bagi pertumbuhan fungi. Lignin yang terikat kepada rantai karbohidrat melalui ikatan ester dapat didegradasi oleh enzim ligninase yang diproduksi oleh fungi seperti fungi pelapuk coklat dan fungi pelapuk putih untuk mendapatkan senyawa-senyawa karbohidrat yang berguna sebagai nutrisi bagi pertumbuhan fungi.

Hemiselulosa merupakan polimer gula yang utamanya tersusun oleh ikatan β -1,4 *glycosidic* dapat didegradasi oleh enzim hemiselulase untuk mendapatkan D-xylosa, D-mannosa, dan arabinosa yang dapat digunakan sebagai nutrisi pertumbuhan fungi. Selulosa merupakan homopolimer, tersusun atas D-glukosa yang terikat oleh ikatan β (1-4), dapat didegradasi oleh enzim selulase yang diproduksi oleh banyak fungi untuk mendapatkan monomer glukosa sebagai sumber nutrisi utama bagi pertumbuhan fungi (Silva *et al.*, 2021).

2.8 Ekstraksi

Metode ekstraksi merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan senyawa bahan alam dari sumber alami seperti tumbuhan, fungi, dan bakteri (Patra *et al.*, 2022). Pengembangan metode ekstraksi dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang memiliki sifat-sifat unik seperti antioksidan, antibiotik, antidiabetes, dan lain-lain. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat sangat diperlukan untuk mengurangi peluang kehilangan senyawa bioaktif dari bermacam sumber (Usman *et al.*, 2022). Salah satu metode ekstraksi yang banyak digunakan untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari mikroorganisme adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut tertentu di suatu wadah selama beberapa waktu (Tambun *et al.*, 2021).

2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan metode pemisahan campuran dimana komponen yang berinteraksi dengan fasa diam akan terpisah dari komponen yang berinteraksi dengan fasa gerak. Kromatografi telah banyak digunakan sebagai metode dalam pemisahan campuran atau identifikasi molekul-molekul kecil (Coskun, 2016). Salah satu metode kromatografi yang sering digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan metode kromatografi yang digunakan untuk mengetahui laju reaksi atau mengetahui komponen dari suatu campuran, dimana fasa geraknya merupakan suatu larutan sementara fasa diam berupa suatu padatan yang melapisi plat KLT. Pada metode kromatografi ini fasa gerak akan naik ke atas plat melewati fasa diam, pergerakan komponen akan dipengaruhi oleh interaksinya (polaritas) terhadap fasa diam dan fasa gerak. Pereaksi tertentu dan sinar UV digunakan untuk memvisualisasikan hasil KLT (Tiwari *and* Talreja, 2022).

2.10 Skrining Aktivitas Antibakteri

Skrining adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas bioaktif dari suatu ekstrak alami. Metode skrining bersifat mudah, cepat, dapat diulang, murah, dan dapat dilakukan untuk berbagai jenis ekstrak. Skrining antibakteri merupakan metode yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu sampel ekstrak terhadap mikroorganisme lain. Melalui skrining, dapat diketahui seberapa jauh suatu sampel ekstrak dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menghentikan pertumbuhan mikroorganisme lain (Massoud *and* Saffari, 2020). Metode skrining aktivitas antibakteri yang direkomendasikan oleh *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) salah satunya adalah metode mikrodilusi menggunakan media cair. Metode ini digunakan untuk menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang merupakan indikator penting dalam skrining aktivitas antibakteri. MIC merupakan konsentrasi terendah suatu agen antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang dinyatakan dalam mg/mL ($\mu\text{g/mL}$). Penentuan hasil akhir metode mikrodilusi dilakukan menggunakan resazurin. Resazurin merupakan sebuah pewarna biru berfluoresensi lemah yang dapat berubah menjadi resorufin berfluoresensi kuat berwarna merah muda saat tereduksi oleh bakteri aktif. Hasil perubahan warna resazurin menjadi merah muda dicatat sebagai hasil negatif, sementara warna ungu dan biru dicatat sebagai hasil positif. Metode mikrodilusi dipilih karena memiliki beberapa kelebihan dibanding metode lainnya, yaitu memiliki tingkat standarisasi yang tinggi, akurat, dan efisien (Kowalska-Krochmal *and* Dudek-Wicher, 2021).

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

LC-MS/MS merupakan teknik analisis kromatografi yang menggabungkan kromatografi cair dan kromatografi massa. Kromatografi cair memiliki peran untuk memisahkan komponen-komponen dalam sampel, sementara spektrofotometri massa digunakan sebagai detektor untuk mengidentifikasi komponen-komponen dalam sampel. LC-MS/MS memiliki kegunaan sebagai

instrumen analisis multikomponen secara simultan yang artinya instrumen ini dapat menganalisis beberapa sampel secara bersamaan.

Instrumen LC-MS/MS terdiri atas pompa, kolom, injektor, detektor, komputer untuk menampilkan data hasil analisis, dan *solvent reservoir system* yang menampung pelarut selama proses analisis. Senyawa yang telah dipisahkan pada kromatografi cair menjadi *peak* kromatografi yang berbeda selanjutnya dianalisis dalam spektrometri massa. Komponen yang ada pada spektrofotometer massa adalah *mass analyser*, *ion source*, dan detektor (Harmita *et al.*, 2019).

Kegunaan LC-MS/MS dalam bidang obat-obatan adalah metode ini dapat menganalisis berbagai macam senyawa induk dan juga hasil metabolitnya. Penggunaan LC-MS/MS pada analisis obat antifungi semakin meningkat seiring dengan banyaknya penggunaan obat antibiotik dari golongan steroid. Analisis dilakukan untuk mengetahui keberadaan steroid dan yang ada pada obat-obat antifungi seperti *voriconazole* dan potensi pengaruhnya pada pasien (Keevil, 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember 2024 hingga Juni 2025 di laboratorium Unit Pelayanan Akademik Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPA-LTSIT) Universitas Lampung meliputi preparasi sampel. Analisis LC-MS/MS dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Polri Sentul Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas diantaranya gelas beaker, pipet tetes, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri, *cover slip*, karet gelang, spatula, kertas saring, aluminium foil, kapas, gunting, mikrotip, plat silika gel 60F254, alas labu bulat, plastik *wrap*, pinset, jarum ose bulat, kolom, bunsen, *autoclave* Tomy SX-700, *rotary evaporator* Buchi R210, *laminar air flow* ESCO/AVC4A1, *incubator* Memmert-Germany/INC-02, lampu UV Kohler/SN402006, mikroskop Zeiss Axio A1, saringan, *drying oven* Jisico, mikropipet DragonLab, *hot plate*, neraca analitik Wigen Houser, dan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) UPLC/Xevo G2-S Qtof (Waters™).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar, akuades, air laut buatan, spiritus, etil asetat *pro analysis* (Merck™), diklorometana (DCM) *pro analysis* (Merck™), dimetil sulfoksida (DMSO) *pro analysis* (Merck™), metanol *pro analysis* (Merck™), alkohol 70 % (OneLab™), n-heksana *pro analysis*

(Merck™), silika gel, serabut kelapa sawit, *Tryptic Soy Broth* (TSB) (Himedia™), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Himedia™), pereaksi serium (IV) sulfat, pereaksi Dragendorff, *ciprofloxacin*, bakteri patogen (*Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*) deposit UPA-LTSIT Universitas Lampung yang diperoleh dari Rumah Sakit Abdul Muluk, Bandar Lampung.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Isolat Fungi Endofit Mangrove 22PLP1-F1

Fungi endofit mangrove yang digunakan pada penelitian ini berasal dari deposit UPA-LTSIT Universitas Lampung yang sebelumnya telah berhasil diisolasi dari ekosistem mangrove Petengoran, Pesawaran (5°34'09"S 105°14'26"E) bagian daun mangrove pada tahun 2022 yaitu spesies *Aspergillus sydowii* dengan kode isolat 22PLP1-F1. Identifikasi morfologi dilakukan untuk mengetahui identitas isolat fungi yang diteliti. Identifikasi fungi endofit dilakukan berdasarkan penelitian Setiawan *et al.* (2022) dengan sedikit modifikasi, identifikasi isolat diawali dengan peremajaan isolat fungi dalam tiga media yaitu *Malt Extract Agar* (MEA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan *Palm Fiber Agar* (PFA) 1 % dan diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Pembuatan media peremajaan isolat terlampir pada Lampiran 1. Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan mengamati warna, bentuk, dan pertumbuhan koloni fungi. Analisis mikroskopis fungi dilakukan dengan cara meletakkan *coverslip* pada sudut 45° ke dalam media serabut kelapa sawit, kemudian strain fungi diambil menggunakan jarum ose steril dan digores pada media dekat *coverslip*. Isolat lalu diinkubasi selama 5 hari. Setelah diinkubasi dan ketika strain sudah tumbuh, *coverslip* ditarik dengan hati-hati dan diletakkan di atas kaca preparat. Lalu diamati dengan mikroskop Zeiss Axio A1. Pengamatan menggunakan mikroskop dilakukan pada *zoom* 100× dan 400×. Hasil pengamatan kemudian didokumentasi dalam bentuk foto.

3.3.2 Kultivasi, Ekstraksi, dan Partisi

Kultivasi dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit. Kultivasi *axenic* dilakukan berdasarkan penelitian oleh Situmorang dan Hendri (2021) dengan sedikit modifikasi. Isolat fungi endofit mangrove 22PLP1-F1 diinokulasi dengan 20 mL media *palm fiber broth* (PFB) dalam erlenmeyer, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan keadaan gelap selama 7 hari. Selanjutnya, inokulum fungi endofit mangrove selanjutnya dikultivasi secara *solid state fermentation* dengan menggunakan 10 g media padat serabut kelapa sawit yang telah dibuat lembab menggunakan air laut buatan. Pembuatan air laut buatan terlampir pada Lampiran 2. Kultivasi dilakukan dalam cawan petri selama 14 hari pada suhu kamar dengan keadaan statis dimana keadaannya diamati selama proses fermentasi.

Co-cultivation diawali dengan membuat kultur bakteri. Kultur dibuat dengan cara meremajakan bakteri dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk *S. aureus* dan *Tryptone Soya Agar* (TSA) untuk *P. aeruginosa* lalu diinkubasi selama 18 jam, bakteri yang telah diremajakan selanjutnya diinokulasi dalam 10 mL media *Tryptone Soya Broth* (TSB) dan diinkubasi selama 2-4 jam. Kultur bakteri ini lalu dimasukkan ke dalam media kultivasi dengan perlakuan yang sama dengan kultivasi *axenic* pada hari ke-4 kultivasi lalu diinkubasi pada suhu kamar dengan keadaan statis selama 14 hari.

Strain fungi yang dikultur diekstrak dengan pelarut diklorometana (DCM):metanol (1:1) menggunakan metode maserasi dimana strain fungi direndam dalam pelarut DCM : metanol dan diinkubasi selama 2 jam. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi secara partisi dengan menggunakan DCM : akuades (1:3) sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas berupa fraksi air dan lapisan bawah berupa fraksi DCM dipisahkan dengan menggunakan pipet. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali pada fraksi DCM.

3.3.4 Skrining Aktivitas Antibakteri

Skrining aktivitas antibakteri mengacu pada *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) menggunakan *microtiter 96-wells plate* berdasarkan penelitian Laila *et al.* (2023) dengan sedikit modifikasi. Isolat bakteri patogen *S. aureus* dan *P. aeruginosa* merupakan deposit UPA-LTSIT Universitas Lampung yang diperoleh dari Rumah Sakit Abdul Muluk, Bandar Lampung. Bakteri-bakteri ini dilaporkan memiliki resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti *ampicillin*, *cefotaxime*, *erythromycin*, dan *imipenem* (Almuhayawi *et al.*, 2023). Suspensi bakteri dibuat dengan menumbuhkan biakan bakteri dalam vial berisi 5 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang disesuaikan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland ($OD_{630} = 0,08-0,1$) dan diencerkan 1:100 (10^6 CFU/mL). Ekstrak kasar fraksi DCM dan fraksi air dibuat dengan konsentrasi 2 mg/mL, *ciprofloxacin* 2 mg/mL sebagai kontrol positif, DMSO 5 % sebagai kontrol negatif, media TSB sebagai kontrol pertumbuhan (blanko), dan sumur dengan media tanpa suspensi bakteri sebagai kontrol kontaminan. Setiap sumur diisi 145-220 μ L media TSB, 50 μ L ekstrak sampel, 25 μ L suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Resazurin 0,02 % sebanyak 30 μ L ditambahkan ke tiap sumur dan diinkubasi selama 2-4 jam untuk dilakukan pengamatan terhadap perubahan warnanya.

3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Prosedur kromatografi lapis tipis (KLT) pada penelitian ini dilakukan berdasarkan laporan Ramadhani *et al.* (2021) dengan sedikit modifikasi. Fraksi air dan fraksi DCM ekstrak kasar diuji KLT menggunakan eluen diklorometana (DCM) : metanol (MeOH) (3:1) dan plat silika sebagai fase diam. Ekstrak kasar hasil elusi lalu divisualisasi dibawah sinar lampu UV λ_{254} nm dan λ_{366} nm dan ditandai noda yang aktif. Dilakukan juga visualisasi plat KLT dengan metode destruktif, pada pewarnaan plat digunakan reagen spesifik yaitu Dragendorff, Ninhidrin, dan $Ce(SO_4)_2$. Pembuatan reagen spesifik terlampir pada Lampiran 3. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan perhitungan nilai R_f dari masing-masing noda terhadap jarak elusi pelarut.

3.2.5 Pemurnian Senyawa Bioaktif

Fraksi ekstrak yang menunjukkan aktivitas antibakteri dilakukan fraksinasi melalui metode kromatografi kolom terbuka menggunakan silika gel (SiO_2) sebagai fase diam yang telah dihidrasi menggunakan pelarut n-heksana. Elusi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana : etil asetat (5:1), n-heksana : etil asetat (3:1), n-heksana:etil asetat (1:1), dan metanol 100 %. Hasil fraksinasi kemudian di KLT dengan eluen yang sesuai dan divisualisasi menggunakan reagen $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, Dragendorff, dan Ninhidrin. Selanjutnya setiap fraksi diuji aktivitas antibakterinya menggunakan *microtiter 96-wells plate* terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari fraksi aktif. Suspensi bakteri dibuat dengan menumbuhkan biakan bakteri dalam vial berisi 10 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang disesuaikan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland ($\text{OD}_{630} = 0,08-0,1$) dan diencerkan 1:100 (10^6 CFU/mL). Setiap fraksi hasil pemurnian dibuat dengan konsentrasi 2 mg/mL, *ciprofloxacin* 2 mg/mL sebagai kontrol positif, metanol 12,5 % sebagai kontrol negatif, media TSB sebagai kontrol pertumbuhan (blanko), dan sumur dengan media tanpa suspensi bakteri sebagai kontrol kontaminan. Setiap sumur diisi 100 μL media TSB. 100 μL sampel ditambahkan pada baris pertama *plate*, setelah dihomogenkan diambil 100 μL untuk dipindahkan ke *well* berikutnya, proses ini dilakukan hingga baris terakhir *plate*. Selanjutnya, ditambahkan 100 μL suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Resazurin 0,02 % sebanyak 30 μL ditambahkan ke tiap sumur dan diinkubasi selama 2-4 jam untuk dilakukan pengamatan terhadap perubahan warnanya (Belanger and Hancock., 2021).

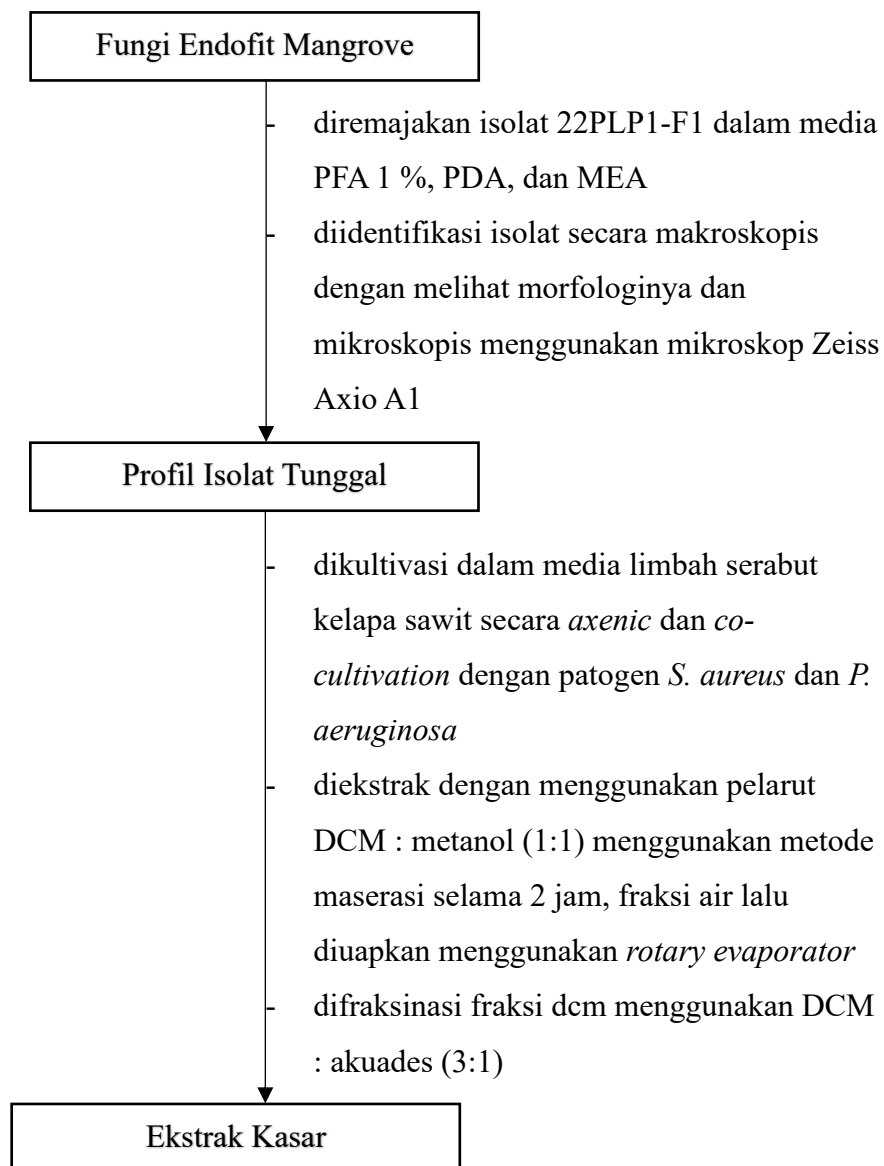
3.2.6 Karakterisasi

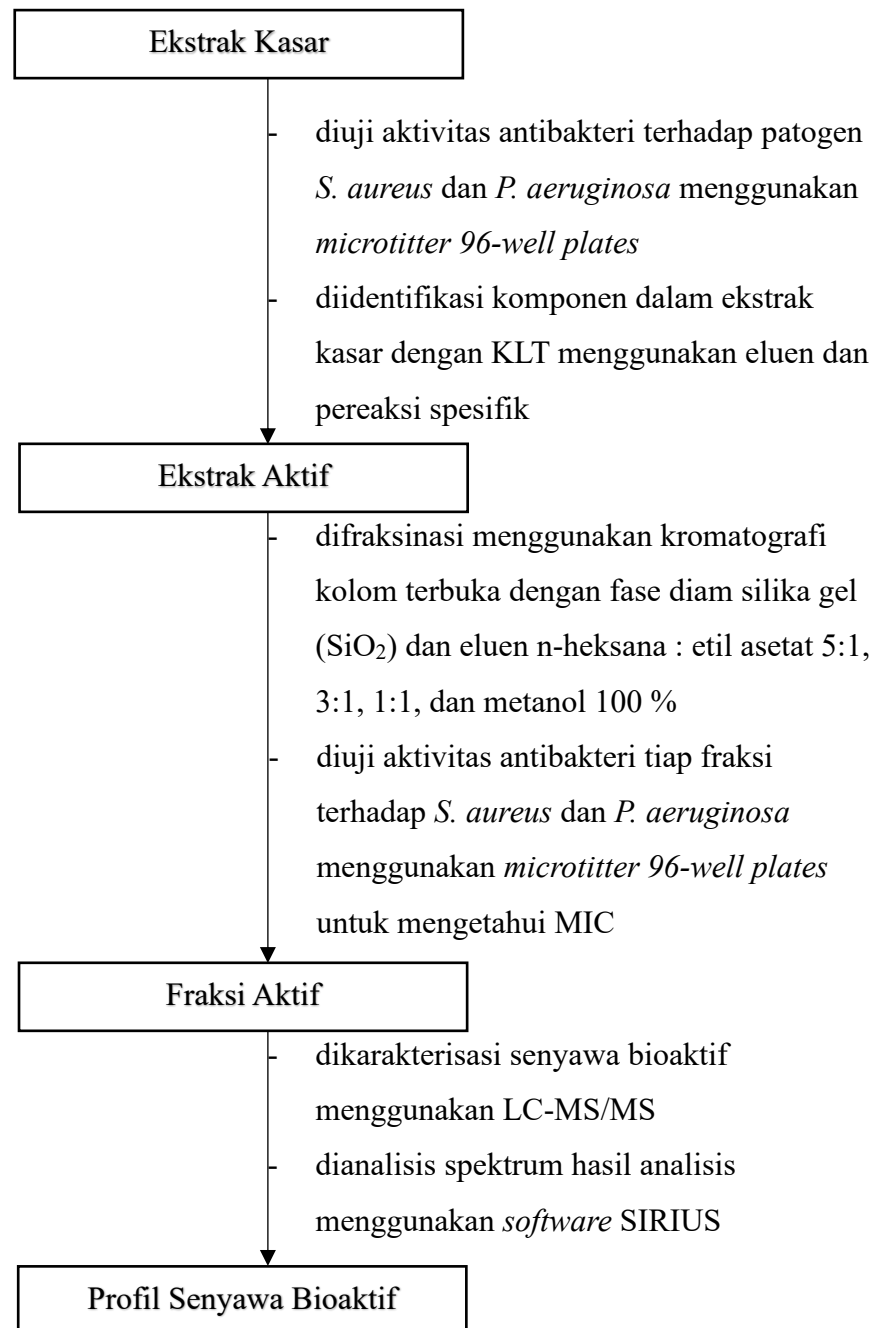
Karakterisasi fraksi aktif hasil ekstrak fungi dilakukan menggunakan LC-MS/MS mode positif. Fraksi aktif dilakukan dalam MeOH dan air lalu dianalisis menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS/MS) UPLC/Xevo G2-S Qtof di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Bogor. Hasil spektrum LC-MS/MS selanjutnya diinput pada aplikasi

Masslynx 4.2 dan SIRIUS 6.2.2 untuk dilakukan analisis struktur kimia senyawa bioaktif yang diperoleh (Widyastuti *et al.*, 2022).

3.4 Pelaksanaan

Adapun pelaksanaan penelitian ini dirangkum dan disajikan sebagai berikut:





V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Adapun simpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Isolat fungi endofit mangrove 22PLP1-F1 telah berhasil dikultur pada media limbah serabut kelapa sawit dan diketahui sebagai *Aspergillus sydowii*.
2. Fraksi aktif metanol isolat 22PLP1-F1 menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap patogen resisten *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai MIC tertinggi 0,5 mg/mL.
3. Hasil karakterisasi LC-MS/MS fraksi aktif metanol isolat 22PLP1-F1 menunjukkan bahwa profil senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri adalah senyawa notoamida yang termasuk golongan alkaloid indol terprenilasi dengan waktu retensi 8.94 menit m/z 446.2093 sebagai notoamida I, waktu retensi 9.27 menit m/z 464.2211 sebagai notoamida U, dan waktu retensi 10.97 menit m/z 478.2000 sebagai notoamida G, diperoleh juga senyawa aspergilon A yang termasuk golongan poliketida dengan waktu retensi 11.15 menit m/z 387.1956 yang memiliki aktivitas sebagai antifouling dan antikanker.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, senyawa bioaktif yang diperoleh dapat menjadi landasan untuk dikembangkan dan dievaluasi sifat farmakokinetika dan potensi toksisitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abukhalil, D.A., Barakat, S. A., Mansour, A., Al-Shami, N., and Naseef, H. 2024. ESKAPE Pathogens: Antimicrobial Resistance Patterns, Risk Factors, and Outcomes a Retrospective Cross-Sectional Study of Hospitalized Patients in Palestine ESKAPE Pathogens: Antimicrobial Resistance Patterns, Risk Factors, and Outcomes a Retrospective Cross-Sectional Study of Hospitalized Patients in Palestine. *Infect Drug Resist.* 17(1): 3813-3823.
- Abushaheen, M.A., Muzaheed, Fatani, A.J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D.D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A.A., Shaik, J., and Jhugroo, P. 2020. Antimicrobial Resistance, Mechanisms and Its Clinical Significance. *Disease-a-Month.* 66(6): 1-21.
- Akram, H., Hussain, S., Mazumdar, P., Chua, K.O., Butt, T.E., and Harikrishna, J.A. 2023. Mangrove Health: A Review of Functions, Threats, and Challenges Associated with Mangrove Management Practices. *Forests.* 14(9): 1-38.
- Alanazi S. 2025. Recent Advances in Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) Applications in Biological and Applied Sciences. *Analytical Science Advances.* 6(1): 1-12.
- Almuhayawi, M. S., Gattan, H. S., Alruhaili, M. H., Alharbi, M. T., Nagshabandi, M. K., Tarabulsi, M. K., Almuhayawi, S. M., Al Jaouni, S. K., Selim, S., Alanazi, A., Alruwaili, Y., Faried, O. A., Amin, I., and Elnosary, M. E. 2023. Molecular Profile and the Effectiveness of Antimicrobials Drugs against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in the Diagnostic Approaches of Otitis Infection. *Infection and Drug Resistance.* 16(1): 4397-4408.
- Ardiansyah. 2021. A Short Review: Bioactivity of Fermented Rice Bran. *Journal of Oleo Science.* 70(11): 1565-1574.
- Asenjo, A., Oteo-Iglesias, J., and Alós, J.I. 2021. What's New in Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria of Clinical Origin?. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 39(6): 291-299.

- Bahri, S., Setiawan, W.A., Setiawan, F., Lutfiah, R., Juliasih, N.L.G.R., Ambarwati, Y., Ahmadi, P., Arai, M., Hendri, J., Hadi, S., Setiawan, A., 2024a. Activity of Mangrove-Derived *Fusarium equiseti* 20CB07RF Extract Against Clinical, Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Science and Technology Indonesia*. 9(3): 594-604.
- Bahri, S., Wihardini, R.A., Setiawan, A., Laila, A., Hendri, J., and Yuwono, S.D. 2024. Isolation and Characterization of Alkaloid Compound of Mangrove Sediment's Fungi and Bioactivity Test Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *AIP Conf Proc*. 2970(1): 060026.
- Belanger, C.R., and Hancock, R.E.W. 2021. Testing Physiologically Relevant Conditions in Minimal Inhibitory Concentration Assays. *Nat Protoc*. 16(1): 3761-3774.
- Bharadwaj, A., Rastogi, A., Pandey, S., Gupta, S., and Sohal, J.S. 2022. Multidrug-Resistant Bacteria: Their Mechanism of Action and Prophylaxis. *Biomed Res Int*. 2022(1): 1-17.
- Bhatia, P., Sharma, A., George, A.J., Anvitha, D., Kumar, P., Dwivedi, V.P., and Chandra, N.S. 2021. Antibacterial Activity of Medicinal Plants Against ESKAPE: An update. *Heliyon*. 7(2): 1-12.
- Bibi, S.N., Gokhan, Z., Rajesh, J., and Mahomoodally, M.F. 2020. Fungal Endophytes Associated with Mangroves - Chemistry and Biopharmaceutical Potential. *South African Journal of Botany*. 134(1): 187-212.
- Bimrah, K., Dasgupta, R., Hashimoto, S., Saizen, I., and Dhyani, S. 2022. Ecosystem Services of Mangroves: A Systematic Review and Synthesis of Contemporary Scientific Literature. *Sustainability (Switzerland)*. 14(19): 1-16.
- Brinda, G. B., Sussha, S. T., and Kiran, G. V. N. S. M. 2021. Peptone Supplementation of Potato Dextrose Agar Medium Proved Better for Mushroom Mycelial Development. *Journal of Krishi Vigyan*. 10(1): 189-195.
- Chi, L.P., Liu, D., Li, X.M., Wan, Y., Wang, B.G., and Li, X. 2023. Aspertides A-E: Antimicrobial Pentadepsipeptides with a Unique p-Methoxycinnamoyl Amide Group from the Marine Isolates *Aspergillus tamaritii* MA-21 and *Aspergillus insuetus* SD-512. *J Agric Food Chem*. 71(36): 13316-13324.
- Chilakamarry, C.R., Mimi Sakinah, A.M., Zularisam, A.W., Sirohi, R., Khilji, I.A., Ahmad, N., and Pandey, A. 2022. Advances in Solid-State Fermentation for Bioconversion of Agricultural Wastes to Value-Added Products: Opportunities and Challenges. *Bioresour Technol*. 343(1): 126065.

- CLSI. 2020. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Eleventh Edition*. CLSI document M07. Wayne.
- Coskun, O. 2016. Separation Techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*. 3(2): 156-160.
- Crone, S., Vives-Flórez, M., Kvich, L., Saunders, A.M., Malone, M., Nicolaisen, M.H., Martínez-García, E., Rojas-Acosta, C., Catalina Gomez-Puerto, M., Calum, H., Whiteley, M., Kolter, R., and Bjarnsholt, T. 2020. The Environmental Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*. 128(3): 220-231.
- Dadgostar, P. 2019. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect Drug Resist*. 12(1): 3903-3910.
- Daley, S. and Cordell, G. A. 2021. Biologically Significant and Recently Isolated Alkaloids from Endophytic Fungi. *Journal of Natural Product*. 84(1): 871-897.
- Deshmukh, S.K., Agrawal, S., Prakash, V., Gupta, M.K., and Reddy, M.S. 2020. Anti-Infectives from Mangrove Endophytic Fungi. *South African Journal of Botany*. 134(1): 237-263.
- Devadatha, B., Jones, E.B.G., Pang, K.L., Abdel-Wahab, M.A., Hyde, K.D., Sakayaroj, J., Bahkali, A.H., Calabon, M.S., Sarma, V. V., Sutreong, S., and Zhang, S.N. 2021. Occurrence and Geographical Distribution of Mangrove Fungi. *Fungal Divers*. 106(1): 137-227.
- El-hawary, S., Moawad, A. S., Bahr, H. S., Abdelmohsen, U. R., and Mohammed, R. 2020. Natural Product Diversity from the Endophytic Fungi of the Genus *Aspergillus*. *RSC Advances*. 10(37): 22058-22079.
- Eleraky, N.E., Allam, A., Hassan, S.B., and Omar, M.M. 2020. Nanomedicine Fight Against Antibacterial Resistance: An Overview of The Recent Pharmaceutical Innovations. *Pharmaceutics*. 12(2): 1-51.
- Eshboev, F., Mamadalieva, N., Nazarov, P.A., Hussain, H., Katanaev, V., Egamberdieva, D., and Azimova, S. 2024. Antimicrobial Action Mechanisms of Natural Compounds Isolated from Endophytic Microorganisms. *Antibiotics*. 13(3): 1-36.
- Essack, S.Y., Desta, A.T., Abotsi, R.E., and Agoba, E.E. 2017. Antimicrobial Resistance in the WHO African Region: Current Status and Roadmap for Action. *Journal of Public Health (United Kingdom)*. 39(1): 8-13.
- Gao, Y., Stuhldreier, F., Schmitt, L., Wesselborg, S., Guo, Z., Zou, K., Mándi, A., Kurtán, T., Liu, Z., and Proksch, P. 2020. Induction of New Lactam Derivatives from the Endophytic Fungus *Aplosporella javeedii* Through an OSMAC Approach. *Front Microbiol*. 11(1): 1-13.

- Ghssein, G. and Ezzeddine, Z. 2022. A Review of *Pseudomonas aeruginosa* Metallophores: Pyoverdine, Pyochelin, and Pseudopaline. *Biology (Basel)*. 11(12): 1-18.
- Grgas, D., Rukavina, M., Bešlo, D., Štefanac, T., Crnek, V., Šikić, T., Habuda-Stanić, M., and Dragičević, T. L. 2023. The Bacterial Degradation of Lignin-A Review. *Water (Switzerland)*. 15(7): 11-417.
- Hahn, M.W., Koll, U., and Schmidt, J. 2019. *Isolation and Cultivation of Bacteria, in: The Structure and Function of Aquatic Microbial Communities*. Springer. Zurich.
- Hamed, A.A., Ghareeb, M.A., Kelany, A.K., Abdelraof, M., Kabary, H.A., Soliman, N.R., and Elawady, M.E. 2024. Induction of Antimicrobial, Antioxidant Metabolites Production by Co-Cultivation of Two Red-Sea-Sponge-Associated *Aspergillus* sp. CO2 and *Bacillus* sp. COBZ21. *BMC Biotechnol.* 24(3): 1-13.
- Harmita, K., Harahap, Y., and Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penerbitan. Jakarta.
- Hashem, A.H., Attia, M.S., Kandil, E.K., Fawzi, M.M., Abdelrahman, A.S., Khader, M.S., Khodaira, M.A., Emam, A.E., Goma, M.A., and Abdelaziz, A.M. 2023. Bioactive Compounds and Biomedical Applications of Endophytic Fungi: A Recent Review. *Microb Cell Fact.* 22(1): 3468-3482.
- Hidayat, R. and Wulandari, P. 2021. Methods of Extraction: Maceration, Percolation and Decoction. *Eureka Herba Indonesia*. 2(1): 68-74.
- Hu, L., Zhang, T., Guan, G., Huang, J., Proksch, P., Chen, X., and Lin, W. 2019. Notoamide-type Alkaloid Induced Apoptosis and Autophagy via a P38/JNK Signaling Pathway in Hepatocellular Carcinoma Cells. *RSC Advances*. 9(1): 19855-19868.
- Idris, F.N. and Nadzir, M.M. 2023. Multi-drug Resistant ESKAPE Pathogens and The Uses of Plants as Their Antimicrobial Agents. *Arch Microbiol.* 205(4): 1-15.
- Idris, F.N. and Nadzir, M.M. 2021. Comparative Studies on Different Extraction Methods of *Centella asiatica* and Extracts Bioactive Compounds Effects on Antimicrobial Activities. *Antibiotics*. 10(4): 1-24.
- Iqlima, A., Mansyur, Negara, W., Roswanjaya, Y. P., Putri, E. M., Gopar, R. A., Prastiwi, H. A., Purba, R. D., Negoro, P. S., Khan, F. A., and Krisbudiman, A. 2024. Isolation and Identification of Lignin Cellulolytic Fungi from Oil Palm Empty Fruit Bunches and the Soil Around Palm Trees in South Kalimantan, Indonesia. *International Journal of Agriculture and Biosciences*. 13(2): 172-180.

- Jha, P., Kaur, T., Chhabra, I., Panja, A., Paul, S., Kumar, V., and Malik, T. 2023. Endophytic Fungi: Hidden Treasure Chest of Antimicrobial Metabolites Interrelationship of Endophytes and Metabolites. *Front Microbiol.* 14(1): 1-16.
- Jiang, C.X., Li, J., Zhang, J.M., Jin, X.J., Yu, B., Fang, J.G., and Wu, Q.X. 2019. Isolation, Identification, and Activity Evaluation of Chemical Constituents from Soil Fungus *Fusarium avenaceum* SF-1502 and Endophytic Fungus *Fusarium proliferatum* AF-04. *J Agric Food Chem.* 67(7): 1839-1846.
- Keevil, B.G. 2022. LC-MS/MS the First 20 Years: A Personal View. *Ann Clin Biochem.* 59(1): 3-6.
- Kowalska-Krochmal, B. and Dudek-Wicher, R. 2021. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens.* 10(1): 165-186.
- Kristanto, G.A. and Koven, W. 2019. Preliminary Study of Antibiotic Resistant *Escherichia Coli* in Hospital Wastewater Treatment Plants in Indonesia. *International Journal of Technology.* 10(4): 765-775.
- Laila, A., Setiawan, F., Widyastuti, W., Fadhillah, M. R., Setiawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Apriliana, E., Ahmadi, P., Arai., M., and Hendri J. 2023. Exploration and Biorefinery Antimicrobial Agent through Solid State Fermentation from Indonesia's Marine Actinomycetes. *Fermentation.* 9(334): 1-14.
- Lastovetsky, O. A., Krasnovsky, L. D., Qin, X., Gaspar, M. L., Gryganskyi, A. P., Huntemann, M., Clum, A., Pillay, M., Palaniappan, K., Varghese, N., Mikhailova, N., Stamatis, D., Reddy, T. B. K., Daum, C., Shapiro, N., Ivanova, N., Kyrpides, N., Woyke, T., and Pawlowska, T. E. 2020. Molecular Dialogues between Early Divergent Fungi and Bacteria in an Antagonism versus a Mutualism. *American Society for Microbiology.* 11(5): 1-19.
- Liao, J., Wang, J., Lu, H., Sheng, G., Peng, P., and Hsu, C. S. 2025. Solvent Effect in Soxhlet Extraction of Source Rocks. *Organic Geochemistry.* 200(1): 104917.
- Massoud, R. and Saffari, H. 2020. Screening Methods for Assessment of Antibacterial Activity in Nature. *Applied Research in Science and Engineering.* 1(1): 1-11.
- Mewengkang, T.T., Lintang, R.A., Losung, F., Sumilat, D.A., and Lumingas, L.J.L. 2022. Identification of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Sea Cucumber, *Holothuria (Halodeima) atra* Jaeger 1833 Flesh Extract from Kalasey Coastal Waters, Minahasa District. *Jurnal Ilmiah PLATAX.* 10(2): 355-363.

- Mulani, M.S., Kamble, E.E., Kumkar, S.N., Tawre, M.S., and Pardesi, K.R. 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol.* 10(1): 1-24.
- Onyena, A.P. and Sam, K. 2020. A Review of The Threat of Oil Exploitation to Mangrove Ecosystem: Insights from Niger Delta, Nigeria. *Glob Ecol Conserv.* 22(1): 1-12.
- Opatz, T. and Netz, N. 2015. Marine Indole Alkaloids. *Marine Drugs.* 13(1): 4814-4914.
- Patra, A., Abdullah, S., and Pradhan, R.C. 2022. Review on the Extraction of Bioactive Compounds and Characterization of Fruit Industry By-Products. *Bioresour Bioprocess.* 9(1): 1-25.
- Raimi, A. and Adeleke, R. 2021. Bioprospecting of Endophytic Microorganisms for Bioactive Compounds of Therapeutic Importance. *Arch Microbiol.* 203(5): 1917-1942.
- Raimundo, I., Silva, S. G., Costa, R., and Keller-Costa, T. 2018. Bioactive Secondary Metabolites from Octocoral-Associated Microbes-New Chances for Blue Growth. *Marine Drugs.* 16(12): 485.
- Ramadhani, A., Arifuddin, M., Rusli, R., and Kunci, K. 2021. Thin Layer Chromatography (TLC) Profile of Endophytic Fungi Extract of *Arcangelisia flava* L. Merr. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences.* 13(1): 21-24.
- Reynolds, D., Kollef, and M. 2021. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs.* 81(18): 2117-2131.
- Sader, H.S., Rhomberg, P.R., Fuhrmeister, A.S., Mendes, R.E., Flamm, R.K., and Jones, R.N. 2019. Antimicrobial Resistance Surveillance and New Drug Development. *Open Forum Infect Dis.* 6(1): 5-13.
- Selegato, D. M. and Castro-Gamboa, I. 2023. Enhancing Chemical and Biological Diversity by Co-cultivation. *Frontiers in Microbiology.* 14(1): 1.
- Setiawan, A., Lutfiah, R., Juliasih, N.L.G.R., Setiawan, W.A., Hendri, J., and Arai, M. 2022. Antibacterial Activity of EtOAc Extract from Marine-Derived Fungus *Aspergillus nomiae* A12-RF Against Clinical Pathogen Bacteria, *Staphylococcus aureus*. *AACL Bioflux.* 15(3): 1413-1421.
- Setiawan, A., Setiawan, F., Juliasih, N.L.G.R., Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, W.A., Djailani, F.M., Mulyono, M., Hendri, J., and Arai, M. 2022. Fungicide Activity of Culture Extract from *Kocuria palustris* 19C38A1 against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Fungi.* 8(3): 1-11.

- Setiawan, A., Setiawan, F., Susianti, S., Setiawan, W. A., Ahmadi, P., Pangestu, R., Hendri, J., and Juliasih, N. L. G. R. 2025. Chemical Profile of The Ethyl Acetate Extract of *Aspergillus sydowi*, 22-PLP1-F1, as Antibacterial Agent Against Clinically Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*. 5(1): 184-199.
- Shahriarinour, M., Ramanan, R. N., Wahab, M. N. A., Mohamad, R., Mustafa, S., and Ariff, A. B. 2011. Improved Cellulase Production by *Aspergillus terreus* using Oil Palm Empty Fruit Bunch Fiber as Substrate in a Stirred Tank Bioreactor through Optimization of the Fermentation Conditions. *Biores*. 6(3): 2663-2675.
- Shao, C. L., Wang, C. Y., Wei, M. Y., Gu, Y. C., She, Z. G., Qian, P. Y., and Lin, Y. C. 2011. Aspergilones A and B, Two Benzylazaphilones with an Unprecedented Carbon Skeleton from the Gorgonian-Derived Fungus *Aspergillus* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21(2): 690-693.
- Silva, D.P.D., Cardoso, M.S., and Macedo, A.J. 2022. Endophytic Fungi as a Source of Antibacterial Compounds-A Focus on Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*. 11(11): 1-45.
- Silva, J.P., Ticona, A.R.P., Hamann, P.R.V., Quirino, B.F., and Noronha, E.F. 2021. Deconstruction of Lignin: From Enzymes to Microorganisms. *Molecules*. 26(8): 1-21.
- Situmorang, D.A.G. dan Hendri, M. 2021. Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit pada Mangrove *Avicennia marina* dari Pulau Payung Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 23(3): 125-133.
- Suhanah, R. A., Suryelita, S., Etika, S. B., Ulfah, M., dan Riga, R. 2021. Jamur Endofitik yang Diisolasi dari Bunga *Andrographis paniculata* (Sambiloto) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 4(1): 139-148.
- Sopalun, K., Laosripaiboon, W., Wachirachaikarn, A., and Iamtham, S. 2021. Biological Potential and Chemical Composition of Bioactive Compounds from Endophytic Fungi Associated with Thai Mangrove Plants. *South African Journal of Botany*. 141(1): 66-76.
- Strobel, G. 2018. The Emergence of Endophytic Microbes and Their Biological Promise. *Journal of Fungi*. 4(2): 1-19.
- Tambun, R., Alexander, V., and Ginting, Y. 2021. Performance Comparison of Maceration Method, Soxhletation Method, and Microwave-Assisted Extraction in Extracting Active Compounds from Soursop Leaves (*Annona muricata*): A Review. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 1122(1): 012095.

- Tiwari, S. and Talreja, S. 2022. Thin Layer Chromatography (TLC) VS. Paper Chromatography: A Review. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*. 6(9): 5-9.
- Tripathi, A., Pandey, P., Tripathi, S.N., and Kalra, A. 2022. Perspectives And Potential Applications of Endophytic Microorganisms in Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. *Front Plant Sci*. 13(1): 1-21.
- Triyono, S., Haryanto, A., Telaumbanua, M., Dermiyati, Lumbanraja, J., and To, F. 2019. Cultivation of Straw Mushroom (*Volvariella volvacea*) on Oil Palm Empty Fruit Bunch Growth Medium. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*. 8(4): 381-392.
- Usman, I., Hussain, M., Imran, A., Afzaal, M., Saeed, F., Javed, M., Afzal, A., Ashfaq, I., Al Jbawi, E., and A. Saewan, S. 2022. Traditional and Innovative Approaches for the extraction of Bioactive Compounds. *Int J Food Prop*. 25(1): 1215-1233.
- Verduzco-Oliva, R. and Gutierrez-Urbe, J.A. 2020. Beyond enzyme production: Solid State Fermentation (SSF) as an Alternative Approach to Produce Antioxidant Polysaccharides. *Sustainability (Switzerland)*. 12(2): 1-14.
- Wacira, T. N., Makonde, H. M., Bosire, C. M., Mzee, S. S., Mwamburi, S. M., and Kibiti, C. M. 2020. Isolation and Morphological Characterization of Endophytic Fungi Isolated from Mangrove Plants Along the Kenyan Coastline. *African Journal of Microbiology Research*. 14(10): 594-607.
- Wei, Q., Bai, J., Yan, D., Bao, X., Li, W., Liu, B., Zhang, D., Qi, X., Yu, D., and Hu, Y. 2021. Genome Mining Combined Metabolic Shunting and OSMAC Strategy of an Endophytic Fungus Leads to the Production of Diverse Natural Products. *Acta Pharm Sin B*. 11(2): 572-587.
- Widyastuti, W., Setiawan, F., Al Afandy, C., Irawan, A., Laila, A., Juliasih, N.L.G.R., Setiawan, W.A., Arai, M., Hendri, J., and Setiawan, A. 2022. Antifungal Agent Chitooligosaccharides Derived from Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste by *Pseudonocardia antitumoralis* 18D36-A1. *Fermentation*. 8(8): 1-11.
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., and Li, M. 2021. antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics*. 10(3): 1-30.
- Zhang, Y., Feng, L., Hemu, X., Tan, N. H., and Wang, Z. 2024. OSMAC Strategy: A Promising Way to Explore Microbial Cyclic Peptides. *Eur J Med Chem*. 268(1): 116175.
- Zhou, J., Feng, Z., Zhang, W., and Xu, J. 2022. Evaluation of the Antimicrobial and Cytotoxic Potential of Endophytic Fungi Extracts from Mangrove Plants *Rhizophora stylosa* and *R. mucronata*. *Sci Rep*. 12(1): 1-12.