

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK JAMUR SIMBION SPONS TERHADAP  
BAKTERI MDR (*Multi Drug Resistant*)**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**ITQONA ZHAFIRAH  
2014221006**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK JAMUR SIMBION SPONS TERHADAP  
BAKTERI MDR (*Multi Drug Resistant*)**

**Oleh**

**ITQONA ZHAFIRAH**

**Skripsi**

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

**Pada**

**Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultass Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## ABSTRAK

### KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR SIMBION SPONS TERHADAP BAKTERI MDR (MULTI DRUG RESISTANT)

Oleh

ITQONA ZHAFIRAH

Resisten bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terhadap berbagai jenis antibiotik menjadi ancaman serius dalam bidang kesehatan. Upaya pencarian sumber antibiotik baru dari alam, termasuk dari organisme laut seperti spons dan jamur simbiotiknya, menjadi sangat penting. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak jamur simbion spons laut terhadap bakteri MDR *S. aureus* dan *E. coli*, serta mengkarakterisasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Jamur simbion dikultivasi dalam media cair. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kemudian dilanjutkan dengan fraksinisasi menggunakan etil asetat dan aquades. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Karakterisasi senyawa ekstrak dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat jamur simbion spons memiliki potensi sebagai antibakteri MDR yang lebih baik terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hasil uji aktivitas ekstrak fraksi didapat bahwa fraksi etil asetat dari isolat SF-03 menunjukkan daya hambat paling tinggi terhadap *S. aureus* (16,73 mm; kategori kuat) dan *E. coli* (15,43 mm; kategori kuat). Analisis statistik menunjukkan bahwa isolat yang memiliki perbedaan signifikan ( $p \leq 0,05$ ) antara konsentrasi ekstrak (10 ppm vs 100 ppm), konsentrasi dengan kontrol positif adalah isolat SF-03. Hasil KLT menunjukkan keberadaan senyawa metabolit sekunder diduga golongan steroid, ditandai dengan bercak berwarna biru kehijauan. Dengan demikian, jamur simbion spons laut berpotensi sebagai agen antibakteri baru terhadap bakteri MDR.

Kata kunci: Antibakteri, Jamur Simbion, MDR *E. coli*, MDR *S. aureus*, Senyawa.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST FROM FUNGI THAT ASSOCIATED WITH SPONGE TO *MULTI DRUG RESISTANT* (MDR) BACTERIA

By

ITQONA ZHAFIRAH

The resistance of pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to various types of antibiotics has become a serious threat to public health. Therefore, the search for new antibiotic sources from nature, including marine organisms like sponges and their symbiotic fungi, is highly important. This study was aimed to analyze the antibacterial activity of marine sponge-associated fungal extracts against MDR (multidrug-resistant) *S. aureus* and *E. coli*, as well as to characterize the bioactive compounds contained within the extracts. Symbiotic fungi cultured in liquid media. Extraction was performed using the maceration method with methanol as the solvent, followed by fractionation using ethyl acetate and distilled water. Antibacterial was tested using the disk diffusion method. Compound characterization extract using Thin Layer Chromatography (TLC) method. The results showed that the fungal isolates had higher antibacterial potential against *S. aureus* than *E. coli*. Among the fractions, the ethyl acetate fraction of isolate SF-03 exhibited the highest inhibitory activity against *S. aureus* (16,73 mm; strong category) and *E. coli* (15,43mm; strong category). The statistical analysis revealed that isolate SF-03 exhibited a significant difference ( $p \leq 0,05$ ) between extract concentration (10 ppm vs 100 ppm), as well as between the concentrations and the positive control. TLC analysis revealed the presence of secondary metabolites belonging to the steroid group, indicated by blue-green spots. Thus, marine sponge associated fungi have potential as a novel antibacterial agent against MDR bacteria.

Keywords: Antibacterial, Compounds, MDR *E. coli*, MDR *S. aureus*, Symbiotic Fungi

.

**Judul Skripsi**

**: KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF DAN  
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
JAMUR SIMBION SPONS TERHADAP  
BAKTERI MDR (*MULTI DRUG RESISTANT*)**

**Nama Mahasiswa**

**: Itqona Zhafirah**

**Nomor Pokok Mahasiswa**

**: 2014221006**

**Program Studi**

**: Ilmu Kelautan**

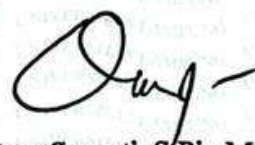
**Fakultas**

**: Pertanian**

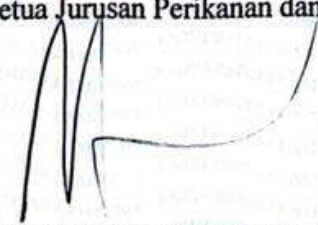


**1. Komisi Pembimbing**

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

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

**2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

  
**Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.**  
**NIP. 198309232006042001**

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

Ketua

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

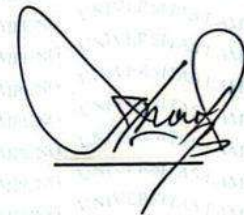


Sekretaris

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



Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.



### 2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.  
NIP. 196411/81989021002

Tanggal lulus ujian skripsi : 3 Oktober 2025





KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Senyawa Bioaktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Simbion Spons Terhadap Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*)”** tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung, 27 November 2025

Yang membuat pernyataan



Itqona Zhafirah  
NPM. 2014221006

## **RIWAYAT HIDUP**

Itqona Zhafirah adalah nama lengkap penulis, lahir di Kotabumi, Provinsi Lampung, pada tanggal 13 Juli 2002 sebagai anak dari pasangan suami istri Bapak Tarmuji dan Ibu Kartini. Menempuh pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak Kemala, Kabupaten Lampung Utara, pada tahun 2007 - 2008, lalu melanjutkan pendidikan dasar di SD Negeri 6 Tanjung Aman, pada tahun 2008 - 2014, dilanjutkan ke pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 7 Kotabumi, pada tahun 2014 – 2017, dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Kotabumi, pada tahun 2017 – 2020.

Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang perguruan tinggi di Universitas Lampung dengan Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, pada tahun 2020. Penulis mengikuti kegiatan mahasiswa tingkat universitas yaitu Koperasi Mahasiswa Universitas Lampung (KOPMA UNILA).

Selama masa perkuliahan, pernah mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Belu, Kecamatan Kota Agung Barat, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung, selama 40 hari pada bulan Januari – Februari 2023. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata Kuliah Bionatural Produk Kelautan pada tahun 2024/2025. Penulis juga telah melaksanakan kegiatan Praktik Umum di Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika (BMKG) Stasiun Meteorologi Maritim Kelas IV, Kecamatan Panjang, Bandar Lampung.



Kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan kekuatan dan ridho-Nya, serta terimakasih yang tulus untuk kedua orang tua,kakak dan adik atas doa, dukungan, dan cinta terbaik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Karakterisasi Senyawa Bioaktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Simbion Spons Terhadap Bakteri MDR (Multi Drug Resistant)*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan FP Unila;
2. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
3. Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama;
4. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris;
5. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Penguji Utama;
6. Anma Hari Kusuma, S.I.K., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik;
7. Kedua orang tua, Bapak Tarmuji dan Ibu Kartini

Bandar Lampung, Desember 2025

Itqona Zhafirah  
2014221006

## DAFTAR ISI

Halaman

|                                                                   |             |
|-------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>DAFTAR TABEL.....</b>                                          | <b>xxii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR .....</b>                                        | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                      | <b>xv</b>   |
| <b>I. PENDAHULUAN.....</b>                                        | <b>1</b>    |
| 1.1 Latar Belakang .....                                          | 1           |
| 1.2 Tujuan Penelitian .....                                       | 3           |
| 1.3 Manfaat Penelitian .....                                      | 3           |
| 1.4 Kerangka Pikir .....                                          | 3           |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                  | <b>6</b>    |
| 2.1 Spons .....                                                   | 6           |
| 2.2 Potensi Senyawa Bioaktif Spons .....                          | 8           |
| 2.3 Jamur Simbion Spons .....                                     | 9           |
| 2.4 Bakteri MDR ( <i>Multi Drug Resistant</i> ) .....             | 10          |
| 2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                          | 12          |
| 2.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....                               | 14          |
| 2.5 Mekanisme Aktivitas Antibakteri .....                         | 16          |
| <b>III. METODE PENELITIAN .....</b>                               | <b>18</b>   |
| 3.1 Waktu dan Tempat.....                                         | 18          |
| 3.2 Bahan dan Alat.....                                           | 18          |
| 3.3 Prosedur Penelitian .....                                     | 21          |
| 3.3.1 Sterilisasi alat dan bahan .....                            | 22          |
| 3.3.2 Pembuatan media .....                                       | 22          |
| 3.3.3 Kultivasi .....                                             | 23          |
| 3.3.4 Ekstraksi jamur simbion spons.....                          | 24          |
| 3.3.5 Kultur bakteri MDR <i>S.aureus</i> dan <i>E. coli</i> ..... | 25          |
| 3.3.6 Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri MDR..... | 25          |
| 3.3.7 Fraksinisasi ekstrak .....                                  | 27          |
| 3.3.8 Uji aktivitas ekstrak fraksi terhadap bakteri MDR.....      | 27          |
| 3.3.9 Pemisahan senyawa ekstrak fraksi etil asetat.....           | 28          |
| 3.3.10 Analisis data .....                                        | 29          |
| <b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                             | <b>30</b>   |
| 4.1 Ekstraksi Jamur Simbion Spons .....                           | 30          |

|                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Simbion Spons ..... | 31        |
| 4.3 Fraksinisasi Ekstrak Jamur Simbion Spons .....              | 35        |
| 4.4 Uji Aktivitas Hasil Fraksinisasi Terhadap Bakteri MDR ..... | 36        |
| 4.5 Karakterisasi senyawa ekstrak fraksi etil asetat SF-03..... | 40        |
| <b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>                              | <b>44</b> |
| 5.1 Simpulan .....                                              | 44        |
| 5.2 Saran .....                                                 | 44        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                     | <b>45</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>                                           | <b>56</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                         | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Senyawa bioaktif jamur simbion pada spons .....                            | 10      |
| 2. Bahan yang digunakan .....                                                 | 18      |
| 3. Alat yang digunakan.....                                                   | 19      |
| 4. Komposisi pembuatan media NA,MEA,MEB dan <i>Zobell</i> dalam 1.000ml ..... | 23      |
| 5. Kategori diameter zona hambat.....                                         | 26      |
| 6. Rendemen ekstrak isolat jamur simbion spons .....                          | 30      |
| 7. Hasil rendemen fraksinisasi ekstrak jamur simbion spons.....               | 35      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                                                                                                                   | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Kerangka pikir penelitian .....                                                                                                                                                       | 5       |
| 2. Struktur Tubuh Spons Secara Umum.....                                                                                                                                                 | 6       |
| 3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                                                                                            | 13      |
| 4. Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                                                                                 | 15      |
| 5. Prosedur penelitian.....                                                                                                                                                              | 21      |
| 6. Diameter zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur simbiosis spons terhadap bakteri MDR <i>S.aureus</i> (a) SF-01 (b) SF-03 (c) SF-04 (d) SF-20 .....   | 31      |
| 7. Diameter zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur simbiosis spons terhadap bakteri MDR <i>E.coli</i> (a) SF-01 (b) SF-03 (c) SF-04 (d) SF-20 .....     | 33      |
| 8. Diameter zona hambat fraksi etil asetat & fraksi aquades pada konsentrasi 15 ppm terhadap bakteri MDR <i>S.aureus</i> hasil dari isolat (a) SF-01 (b) SF-03 (c) SF-04 (d) SF-20 ..... | 37      |
| 9. Diameter zona hambat fraksi etil asetat & fraksi aquades pada konsentrasi 15 ppm terhadap bakteri MDR <i>E.coli</i> hasil dari isolat (a) SF-01 (b) SF-03 (c) SF-04 (d) SF-20 .....   | 38      |
| 10. Profil KLT hasil fraksinisasi pada UV 254nm menggunakan fase gerak A= etil asetat:n-Heksana (1:1), B=etil asetat:n-Heksana (1:2),C=etil asetat:n-Heksana (2:1) .....                 | 40      |
| 11. Visualisasi KLT dengan reagen vanilin-asam sulfat pada eluen etil asetat:n-Heksana (1:2) .....                                                                                       | 42      |



|                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 12. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur simbion spons terhadap bakteri MDR <i>S. aureus</i> (a) SF-01 (b) SF-03 terhadap bakteri MDR <i>E. coli</i> (c) SF-20.....               | 56 |
| 13. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak fraksi, (a) Terhadap bakteri MDR <i>S. aureus</i> , (b) Terhadap bakteri MDR <i>E. coli</i> .....                                              | 57 |
| 14. Dokumentasi proses penelitian (a) Proses kultivasi jamur, (b) Ekstrak hasil ekstraksi, (c) Proses ekstraksi, (d) Pembuatan media, (e) Proses fraksinisasi, (f) Hasil fraksinisasi..... | 58 |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                                                                                         | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Dokumentasi hasil uji aktivitas antibakteri .....                                                             | 56      |
| 2. Dokumentasi hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak fraksi.....                                               | 57      |
| 3. Dokumentasi penelitian .....                                                                                  | 58      |
| 4. Hasil uji-t antara konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm pada bakteri MDR<br><i>S.aureus</i> .....                   | 59      |
| 5. Hasil uji-t antara konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm pada bakteri MDR<br><i>E.coli</i> .....                     | 59      |
| 6. Hasil uji-t antara konsentrasi 10 ppm dengan kontrol positif terhadap bakteri<br>MDR <i>S.aureus</i> .....    | 60      |
| 7. Hasil uji-t antara konsentrasi 10 ppm dengan kontrol positif terhadap bakteri<br>MDR <i>E.coli</i> .....      | 61      |
| 8. Hasil uji-t antara konsentrasi 100 ppm dengan kontrol positif terhadap bakte-<br>ri MDR <i>S.aureus</i> ..... | 62      |
| 9. Hasil uji-t antara konsentrasi 100 ppm dengan kontrol positif terhadap bak-<br>teri MDR <i>E.coli</i> .....   | 62      |
| 10. Hasil uji-t antara fraksi etil asetat dan fraksi aquades terhadap bakteri MDR<br><i>S.aureus</i> .....       | 63      |
| 11. Hasil uji-t antara fraksi etil asetat dan fraksi aquades terhadap bakteri MDR<br><i>E.coli</i> .....         | 64      |
| 12. Hasil uji-t antara fraksi etil asetat dan kontrol positif terhadap bakteri MDR<br><i>S.aureus</i> .....      | 65      |
| 13. Hasil uji-t antara fraksi etil asetat dan kontrol positif terhadap bakteri MDR<br><i>E.coli</i> .....        | 65      |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 14. Hasil uji-t antara fraksi aquades dan kontrol positif terhadap bakteri MDR<br><i>S.aureus</i> ..... | 66 |
| 15. Hasil uji-t antara fraksi aquades dan kontrol positif terhadap bakteri MDR<br><i>E.coli</i> .....   | 67 |

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu tantangan terbesar dalam sistem kesehatan di dunia termasuk di Indonesia hingga saat ini adalah peningkatan jenis bakteri patogen resisten terhadap antibiotik. Telah terjadi kematian 4,9 juta manusia di dunia di tahun 2019 akibat infeksi bakteri resisten. Resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan berkurangnya sensitivitas antibiotik terhadap suatu bakteri yang membuat bakteri semakin kebal (Rukmini et al., 2019). Resistensi antibiotik dapat terjadi karena beberapa hal, antara lain mutasi gen resisten, pembentukan enzim dan pertukaran gen secara horizontal (Pratiwi, 2017). Selain itu, bakteri mengalami resisten disebabkan karena pemakaian antibiotik yang tidak tepat dosis, tidak tepat diagnostik dan tidak tepat bakteri penyebab (Estiningsih et al, 2016). Bakteri patogen yang telah banyak dilaporkan mengalami resistensi terhadap berbagai golongan antibiotik adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dikenal sebagai bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*).

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah resistensi adalah menemukan sumber antibiotik baru yang berasal dari bahan alami salah satunya dengan mengeksplorasi biota laut. Salah satu biota laut yang dapat dimanfaatkan yaitu spons. Spons dikenal sebagai penghasil senyawa bioaktif yang sangat potensial. Sekitar 32% senyawa bioaktif yang berhasil diisolasi dilaporkan berasal dari spons (Blunt et al., 2015). Rhandour et al. (2016) mengatakan spons menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti, alkaloid, tanin, steroid, flavonoid dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antijamur, antioksidan, antibakteri, anti-virus, antitumor, dan antiinflamasi. Sesuai dengan penelitian yang telah dilaksanakan oleh Maisaroh et al. (2024) melaporkan bahwa spons lautan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *E. coli* MDR dan *V. parahae*

Namun, eksploitasi spons secara langsung dapat berdampak negatif terhadap keseimbangan ekosistem laut. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain yang tetap mampu menghasilkan senyawa aktif serupa tanpa merusak populasi spons di alam. Salah satu alternatif tersebut adalah pemanfaatan jamur yang bersimbion pada spons.

Jamur simbion spons diketahui merupakan salah satu sumber metabolit sekunder, metabolit sekunder yang dihasilkan jamur merupakan hasil komunikasi kimia antara jamur dan spons yang menguntungkan sehingga jamur mampu mensintesis senyawa yang serupa dengan inangnya (Pejin & Karaman, 2017). Sekitar hampir 8% metabolit sekunder dari spons diproduksi oleh mikroba simbion. Jamur yang bersimbion dengan spons memiliki kemampuan sebagai sitotoksik, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi (Casertano et al., 2020). Penelitian yang dilakukan Bastian et al., (2018) berhasil mengisolasi jamur dari spons *Callispongia* sp. dan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* dan jamur *Candida albicans*. Penelitian lainnya membuktikan bahwa, jamur simbion spons *Penicillium oxalicum* berhasil diisolasi dari spons *Homaxinella tanitai* dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E.coli* dan *B. subtilis* dengan menghasilkan senyawa terpenoid dan fenolik (Sari et al., 2021). Produksi metabolit sekunder oleh jamur ditentukan oleh jenis jamur, kondisi lingkungan tempat tumbuh jamur, dipengaruhi oleh media, waktu inkubasi, suhu, pH dan tingkat aerasi (Aini, 2023).

Pulau pahawang memiliki kondisi lingkungan yang mendukung kehidupan spons, terutama karena keberadaan terumbu karang yang menjadi habitat utama bagi berbagai biota laut. Pulau pahawang termasuk kedalam perairan laut dangkal yang dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan kejernihan air, kondisi tersebut menjadi kondisi habitat yang baik bagi spons (Sari et al., 2023). Suhu rata-rata perairan pulau pahawang berkisar antara 29°C - 30,2°C, suhu tersebut masih dalam batas toleransi bagi pertumbuhan spons. Parameter fisika-kimia perairan seperti kecerahan, arus, DO, pH, dan salinitas berkorelasi positif terhadap ekosistem karang dan biotalaut pulau pahawang (Akbar et al., 2025). Namun, eksplorasi jamur simbion spons dari wilayah perairan Indonesia, khususnya Pulau Pahawang masih terbatas. Padahal kondisi spons di Pulau Pahawang masih cukup

baik sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi jamur simbion spons sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Menganalisis aktivitas ekstrak jamur simbion spons sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Menganalisis aktivitas hasil fraksinisasi ekstrak jamur simbion spons sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR *S. aureus* dan *E. coli*.
3. Karakterisasi hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) senyawa yang terkandung pada fraksi jamur simbion spons yang memiliki aktivitas antibakteri.

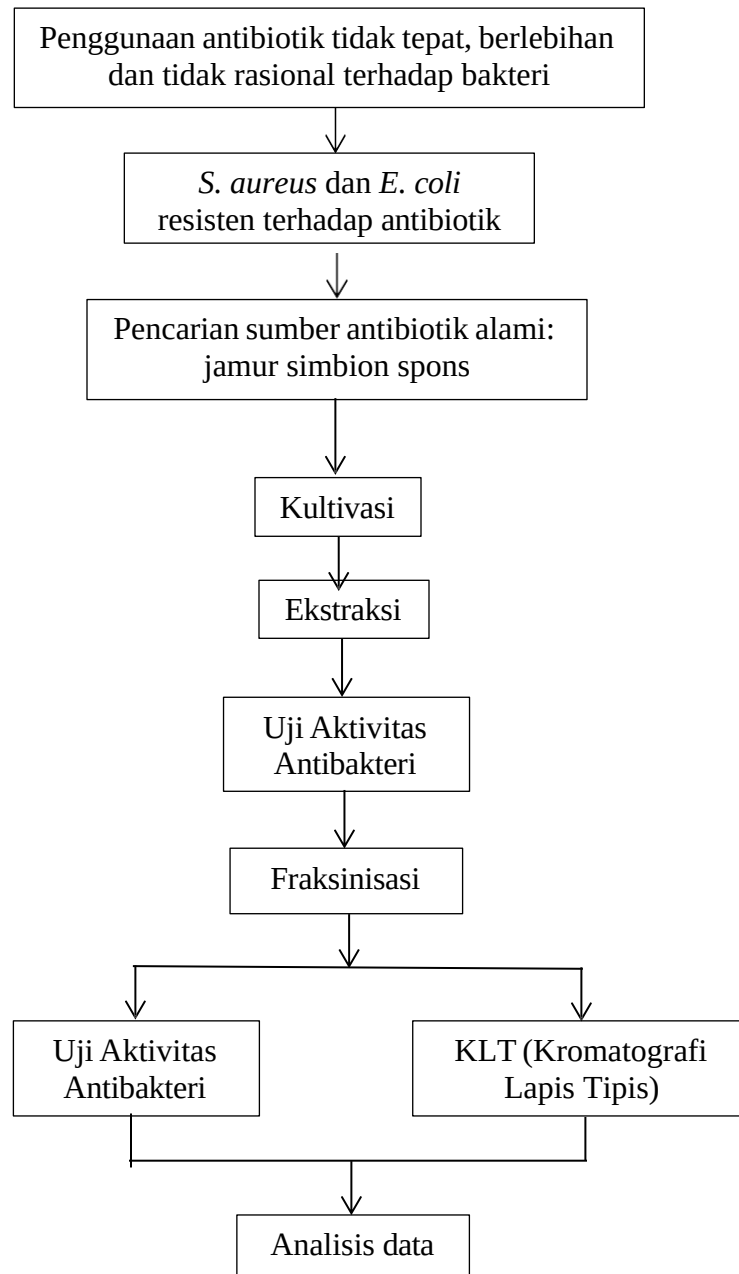
## **1.3 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini yaitu, diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi antibakteri dan mengetahui potensi senyawa bioaktif yang terdapat dalam jamur simbion spons yang dapat menjadi agen antibakteri baru terhadap permasalahan resistensi antibiotik yang terjadi dan kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri MDR. Penelitian ini juga dapat menjadi referensi untuk studi lanjutan khususnya dalam pengembangan metabolit sekunder dari mikroorganisme laut sebagai alternatif bahan baku obat.

## **1.4 Kerangka Pikir**

Resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi permasalahan di dunia medis dan menjadi ancaman serius bagi masyarakat. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, berlebihan dan tidak rasional merupakan faktor yang menyebabkan bakteri menjadi resisten terhadap berbagai golongan antibiotik (Estiningsih et al., 2016). Bakteri yang sering menginfeksi manusia dan dilaporkan resisten adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Upaya untuk mengatasi permasalahan resistensi tidak hanya bergantung pada pengembangan antibiotik sintesis baru, tetapi juga melalui pencarian sumber antibakteri alami salah satunya dari biota laut. Salah satu sumber potensial adalah spons laut. Spons diketahui menghasilkan berbagai metabolit sekunder

dengan aktivitas antibakteri, antifungi dan antitumor (Rhandour et al., 2016). Namun, eksploitasi spons secara langsung dapat mengakibatkan kerusakan ekosistem karena jumlah spons di lautan menjadi berkurang. Maka digunakan jamur simbiosis spons sebagai alternatif berkelanjutan. Jamur simbiosis spons terbukti menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa dengan inangnya (Casertano et al., 2020). Pemanfaatan jamur simbiosis spons dapat dilakukan untuk menemukan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang telah mengalami resistensi. Penggunaan jamur yang hidupnya berasosiasi dengan spons dalam bentuk simbiosis lebih baik karena dapat dimurnikan dan dikultur dalam skala laboratorium, sehingga tidak perlu mengoleksinya dari alam dan dapat diperbanyak dalam waktu yang lebih cepat (Abubakar et al., 2011). Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi potensi jamur simbiosis spons sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* MDR. Secara ringkas kerangka penelitian disajikan pada Gambar 1.



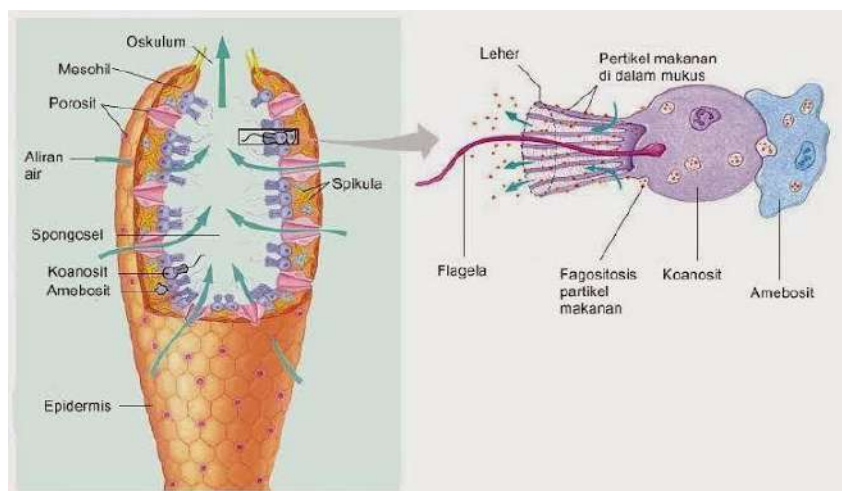
Gambar 1. Kerangka pikir penelitian.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Spons

Spons termasuk kedalam filum porifera, spons diklasifikasikan menjadi 4 kelas pada, yaitu kelas Calcarea, kelas Hexactinellida, kelas Demospongiae, dan kelas Sclerospongiae. Spons dicirikan memiliki banyak pori-pori di sepanjang tubuhnya (Haedar et al., 2016). Bentuk tubuh spons pada umumnya asimetris atau tidak beraturan, bentuknya ada yang seperti tabung, vas bunga, mangkuk atau bercabang seperti tumbuhan, kipas, terompet, dan lain-lain. Warna tubuhnya bervariasi, kelabu, kuning, biru, hitam, putih keruh, cokelat, jingga (sering berubah tergantung cahaya) (Rahmadina, 2021).



Gambar 2. Struktur tubuh spons secara umum.

(Sumber: Ismail marzuki, 2018).

Struktur tubuh spons disajikan dalam gambar 2. Dapat dilihat pada gambar bahwa spons tersusun atas sel-sel yang memiliki banyak fungsi termasuk mencari makan, respirasi dan reproduksi (Haris & Jompa, 2021). Lapisan luar yaitu lapisan

epidermis tersusun atas sel-sel berbentuk pipih yang disebut pinakosit. Diantara pinakosit terdapat pori-pori yang membentuk saluran air yaitu spongokol atau rongga tubuh. Lapisan dalam, yaitu koanosit yang memiliki flagelum berfungsi sebagai tempat respirasi dan mengatur pergerakan air. Terdapat juga mesohil yaitu antara lapisan dalam dan lapisan luar. Pada spongokol makanan ditelan secara fagositosis dan oksigen diserap secara difusi oleh koanosit. Sisa pembuangan dikeluarkan melalui lubang yang disebut oskulum (Ismail Marzuki, 2018). Didalam mesohil mempunyai beberapa organ yaitu amubosit sebagai transportasi  $O_2$  dan zat-zat makanan, ekskresi serta penghasil gelatin. Arkeosit yaitu sel amubosit yang dapat membentuk sel-sel reproduktif. Skleroblast yang berfungsi membentuk spikula. Spikula merupakan unsur pembentuk tubuh (Rahmadina, 2021).

Spons termasuk hewan yang bersifat *filter feeder* (menyaring makanan) dan nutrient dalam memperoleh makanan. Spons hidup secara heterotrof. Makanan spons adalah bakteri dan plankton. Makanan yang masuk ke tubuh spons berbentuk cairan. Pencernaan spons terjadi secara intraseluler dan hasilnya disimpan dalam organ *archaeocyte*. Reproduksi spons terjadi secara asexual dan seksual. Reproduksi secara asexual terjadi dengan pembentukan tunas/pucuk dan gemmule pada tubuh induk. Fragmen-fragmen kecil melepaskan diri dari spons induk, menempel pada substrat dan tumbuh menjadi spons baru. Reproduksi secara seksual spons dilakukan dengan pembuahan sel telur spons oleh sel sperma spons lain. Sel-sel sperma dilepaskan ke dalam air, kemudian masuk ke tubuh spons lain. Hasil pembuahan akan menjadi larva, kemudian larva keluar dari tubuh induk dan melekat didasar perairan untuk tumbuh menjadi dewasa (Carrier et al, 2022).

Spons hidup di berbagai tipe perairan mulai dari perairan air tawar, payau dan laut. Biota ini hidup di dasar perairan dan biasanya menempel di substrat yang keras seperti batu atau karang dan berkompetisi dengan organisme penempel lainnya untuk memperoleh ruang dan makanan (Husmayani et al., 2021). Spons sebagai salah satu jenis kekayaan alam hayati, habitatnya dilautan mencapai 850 spesies (Warbung et al., 2013). Spons merupakan salah satu biota penyusun ekosistem pesisir dan laut, terutama pada ekosistem terumbu karang dan padang lamun (Wulff, 2012). Hewan tersebut memberikan sumbangan yang penting terhadap komunitas

bentuk laut dan umumnya dijumpai di perairan tropis dan sub tropis. Sebarannya dimulai dari zona intertidal hingga zona subtidal pada suatu perairan (Haedar et al., 2016). Keanekaragaman jenis spons pada suatu habitat umumnya ditentukan oleh kondisi perairan yang jernih, salinitas sedang, mendapat cahaya matahari yang cukup dan adanya nutrisi yang didukung oleh arus. Hampir sebagian besar kawasan pantai Indonesia cocok untuk habitat bagi kelangsungan hidup spons (Yanti et al., 2020).

## 2.2 Potensi Senyawa Bioaktif Spons

Spons memiliki potensi bioaktif, sudah banyak kajian yang membuktikan bahwa spons laut telah berkontribusi pada peningkatan paten obat dari lautan seperti antitumor, antivirus, antiinflamasi, antimalaria dan beragam treatment kesehatan manusia (Rifai et al., 2013). Spons mempunyai kemampuan untuk mensintesis berbagai komponen senyawa bioaktif seperti alkaloid, peptida, terpena, steroid, saponin, tanin dan beberapa senyawa lainnya (Nurhamidin et al., 2022). *C. aerizusa* diketahui memiliki potensi antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* karena memiliki senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, terpenoid dan saponin yang diketahui menggunakan metode analisis LC-MS (Mangurana et al., 2019). Spons *A. oroides* diketahui mengandung senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kandungan senyawa yang terdapat pada spons *A. oroides* adalah alkaloid berdasarkan pengamatan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan KLT dengan pereaksi dragendorff (Risna et al., 2022).

Ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin berdasarkan uji fitokimia. Ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat berdasarkan uji antioksidan menggunakan metode DPPH dengan menghasilkan nilai  $IC_{50}$ -nya diantara 50-100 (Rumagit et al., 2015). *H. erecta* yang berasal dari perairan Pulau Pari mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel HeLa dengan  $LC_{50}$  sebesar 30,497 ppm. Identifikasi senyawa yang terkandung didalam spons menggunakan metode GC-MS menghasilkan senyawa 4-nonylphenol, dibutil phthalat, ester heksadioat bis (2-etilheksil) dan kolesterol (Swantara et al.,

2016). Spons *Xestospongia sp.* asal Pulau Yapen mengandung metabolit sekunder triterpenoid/steroid, alkaloid dan saponin, senyawa yang terkandung di dalamnya mampu memiliki aktivitas antimalaria secara *In Vivo* (Murtihapsari et al., 2021).

### 2.3 Jamur Simbion Spons

Spons dapat berasosiasi dengan mikroba yaitu bakteri dan jamur. Jamur yang bersimbion dengan spons dapat berlangsung dalam sitoplasma di dalam tubuh spons (simbiosis intraseluler), di sisi dalam tubuh spons (endosimbiosis ekstraseluler) dan di bagian luar tubuh spons (eksosimbiosis ekstraseluler) (Harti, 2015). Peran jamur sebagai mikroorganisme dalam tubuh spons digunakan sebagai pertahanan diri dari predator, pertahanan dari infeksi patogen, membantu metabolisme spons dan menghasilkan senyawa bioaktif (Kane et al., 2016). Senyawa yang dihasilkan oleh jamur sangat berpotensi sebagai antibakteri, antivirus, antioksidan dan aktivitas antitumor, sehingga dapat diaplikasikan dalam dunia kesehatan dan telah terbukti memiliki banyak sumber metabolit sekunder aktif. Jamur *Penicillium oxalicum* hasil isolasi dari spons *Homaxinella tanitai* terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis* dan *E. coli* disebabkan adanya senyawa terpenoid dan fenolik pada jamur simbion spons tersebut (Sari et al., 2021).

Kondisi lingkungan yang ekstrim seperti salinitas tinggi, tekanan tinggi, variasi suhu, kompetisi dengan bakteri, virus dan jamur lainnya yang dapat menyebabkan jamur pada organisme laut mampu mengembangkan senyawa metabolit spesifik (Ayer et al., 2018). Jamur *Aspergillus unguis* dari spons laut *Haliclona fascigera* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, waktu pertumbuhan berpengaruh terhadap produksi senyawa dan waktu optimal produksi metabolite sekunder terjadi pada hari ke-21 pada fase akhir pertumbuhan (Rendowaty et al., 2017). Meskipun asosiasinya terdapat dalam spons, namun fungsinya masih belum banyak dieksplorasi (Roik et al., 2022). Contoh jamur simbion dan aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa bioaktif jamur simbion pada spons

| No | Jamur simbion                   | Asal spons                 | Senyawa                   | Aktivitas   | Literatur              |
|----|---------------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------|------------------------|
| 1. | <i>Penicillium oxalicum</i>     | <i>Homaxinella tanitai</i> | Terpenoid dan fenolik     | Antibakteri | Sari et al., 2021      |
| 2. | <i>Aspergillus unguis</i>       | <i>Haliclona fascigera</i> | Unguinol dan nornidulin   | Antibakteri | Rendowaty et al., 2017 |
| 3. | <i>Alternaria sp.</i>           | <i>Callyspongia sp.</i>    | Perylenequinone dan fenol | Sitotoksik  | Ashok et al., 2019     |
| 4. | <i>Aspergillus candidus</i>     | <i>Epipolasis sp.</i>      | Preussin                  | Antikanker  | Golbabaie et al., 2020 |
| 5. | <i>Cochliobolus geniculatus</i> | <i>Haliclona fascigera</i> | Radicinin                 | Antikanker  | Handayani et al., 2020 |

## 2.4 Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*)

Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) adalah suatu keadaan dimana bakteri resisten terhadap minimal satu jenis antibiotik dari  $\geq 3$  golongan antibiotik (Estiningsih et al., 2016). Resistensi antibiotik merupakan konsekuensi dari penggunaan antibiotik yang keliru dan perkembangan dari mikroorganisme tersebut, keadaan tersebut juga karena adanya mutasi atau retensi gen yang didapat sehingga terjadi resistensi terhadap antibiotik. *Multidrug-resistant organism* (MDRO) adalah mikroorganisme, terutama bakteri yang mengalami MDR. Bakteri dinyatakan resisten bila pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh antibiotik pada dosis maksimum (Putra et al., 2019).

Mekanisme resistensi antibiotik terdiri dari dua bentuk utama yaitu:

1. Resistensi intristik menunjukkan bahwa bakteri tidak dipengaruhi oleh antimikroba karena sifatnya secara alami sudah dimiliki oleh bakteri tersebut (Reygaert, 2018).
2. Resistensi didapat menunjukkan adanya perubahan pada bakteri yang awalnya sensitif terhadap antimikroba kemudian berubah menjadi resisten. Resistensi ini terjadi akibat memperoleh materi genetik dari bakteri lain melalui proses mutasi gen kemudian diturunkan secara vertikal atau melalui transfer gen horizontal konjugasi, transformasi, transduksi (Robertus, 2024).
  - a. Mutasi: proses mutasi dapat terjadi secara langsung, tidak langsung dan acak berdasarkan lingkungan. Mutasi terjadi akibat perubahan pada gen atau terjadi perubahan pada satu basa nukleotida.

- b. Konjugasi: proses pemindahan materi genetik dari satu bakteri ke bakteri lainnya. Konjugasi diperantarai oleh pili konjugasi dan dapat memindahkan gen resisten pada plasmid.
- c. Transformasi: transformasi terjadi karena beberapa bakteri melepaskan DNA ke lingkungan sekitar saat bakteri mati dan lisis, lalu bakteri lain akan mengambil DNA tersebut dan menggabungkannya melalui rekombinasi.
- d. Transduksi: materi genetik DNA resisten dipindahkan dari satu bakteri ke bakteri lainnya melalui virus yang menginfeksi bakteri (bakteriofag) (Donnaliazarti, 2022).

Satu bakteri dapat memiliki lebih dari satu mekanisme. Terdapat 4 kategori mekanisme resistensi antibiotik yaitu:

1. Pembatasan penyerapan obat (*Drug uptake limitation*), bakteri gram negatif memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida yang mencegah masuknya antibiotik sehingga antibiotik tidak dapat menembus membran luar (Blair et al., 2015).
2. Modifikasi target obat (*Drug target modification*), bakteri dapat mengubah struktur target antibiotik agar obat tidak dapat lagi berikatan. Gen *mecA* pada *S. aureus* memodifikasi *Penicillin binding protein* (PBP) dan menyebabkan resistensi  $\beta$ -laktam. Mutasi pada DNA girase atau topoisomerase IV menyebabkan resistensi terhadap *fluoroquinolon* (Reygaert et al., 2018).
3. Inaktivasi obat (*Drug inactivation*), bakteri menghasilkan enzim yang menempel pada gugus kimia seperti fosforil, asetil atau adenil ke molekul antibiotik sehingga mencegah pengikatan antibiotik ke targetnya. Enzim  $\beta$ -laktamase memutus cincin  $\beta$ -laktam sehingga membuat antibiotik menjadi tidak aktif (Munita et al., 2016).
4. Eflluks obat (*Drug efflux*), bakteri mengeluarkan antibiotik dari dalam sel menggunakan pompa eflluks sehingga antibiotik keluar sebelum berhasil menghambat pertumbuhan bakteri (Munita et al., 2016).

Bakteri dapat dibedakan antara bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif. Kelompok bakteri tersebut dibedakan berdasarkan dinding selnya. Bakteri gram

positif memiliki struktur dinding sel yang tebal, berlapis tunggal yang tersusun dari peptidoglikan dan lebih rentan terhadap antibiotik. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel tipis yang terdiri dari kandungan lipid tinggi dan peptidoglikan, memiliki membran plasma ganda yang diselimuti oleh membrane luar permeabel sehingga lebih kuat terhadap antibiotik (Rini et al., 2020). Salah satunya, *S. aureus* yang merupakan bakteri gram-positif dan *E. coli* yang merupakan bakteri gram-negatif yang mengalami resisten terhadap antibiotik (Lozano et al., 2017).

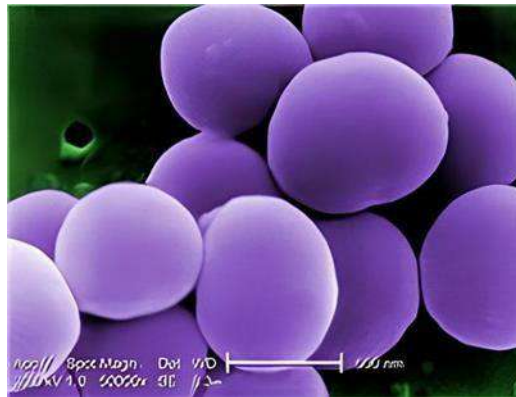
#### 2.4.1 *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang termasuk kedalam bakteri strain MDR. *S. aureus* mempunyai kemampuan memperbanyak diri dan menyebar luas ke jaringan tubuh karena mengandung banyak faktor virulensi dalam menyebabkan penyakit. *S. aureus* menyebabkan berbagai infeksi bernanah dan keracunan pada manusia. Penyakit yang sering terjadi pada manusia yang diakibatkan oleh bakteri *S. aureus* yaitu, sinusitis, miokarditis, meningitis, pneumonia, dermatitis, dan osteomielitis (Susilowati, 2014). Pengobatan dari infeksi *S. aureus* adalah dengan menggunakan antibiotik. Akan tetapi, praktik penggunaan antibiotik pada bakteri ini tidak dikontrol dengan baik sehingga menimbulkan masalah resistensi. Menurut Soedarto (2015), klasifikasi bakteri *S. aureus* adalah sebagai berikut:

|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| Domain  | : Bacteria                     |
| Kingdom | : Eubacteria                   |
| Phylum  | : Firmicutes                   |
| Class   | : Bacilli                      |
| Ordo    | : Bacillales                   |
| Family  | : Staphylococcaceae            |
| Genus   | : Staphylococcus               |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, bergerombol, memiliki diameter sebesar 0,8-0,9µm, tidak bergerak dan tidak memiliki spora (Soedarto, 2015). Koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk karena

membentuk pigmen *lipochrom*, dan dapat tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4mm (Gusti, 2019). *S. aureus* mampu mempertahankan zat warna kristal violet pada pewarnaan gram, sehingga saat dilakukan pengamatan nampak berwarna ungu dan jika dilihat dibawah mikroskop bakteri ini akan berbentuk seperti sekelompok anggur (Sudjito, 2018). Bakteri *S. aureus* disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *S. aureus*.

Sumber: Hamami et al., (2020).

*S. aureus* menjadi resisten terhadap antibiotik melalui berbagai mekanisme. *S. aureus* berubah menjadi resisten karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut *Staphylococcus Cassette Chromosome mec* (SCC *mec*) dan gen ini mengkode Penicilin Binding Protein 2a (PBP2a) sehingga antibiotik tidak dapat menghambat sintesis dinding sel (Prasetio et al., 2016). Timbulnya resistensi terhadap antibiotik golongan  $\beta$ -laktam adalah dengan diproduksinya enzim  $\beta$ -laktamase yang mampu menguraikan cincin  $\beta$ -laktam pada antibiotik seperti penisilin dan ampilisin sehingga antibiotik menjadi tidak efektif (Hilda & Berliana, 2015). Mekanisme lain yang dapat mengubah *S. aureus* menjadi bakteri resisten yaitu melalui efluks antibiotik. Pompa efluks memompa keluar antibiotik dari dalam sel sebelum mencapai konsentrasi yang cukup untuk membunuh bakteri. *S. aureus* dapat mengubah struktur membran sel sehingga antibiotik tidak dapat masuk kedalam sel dengan efektif (Utami, 2013).

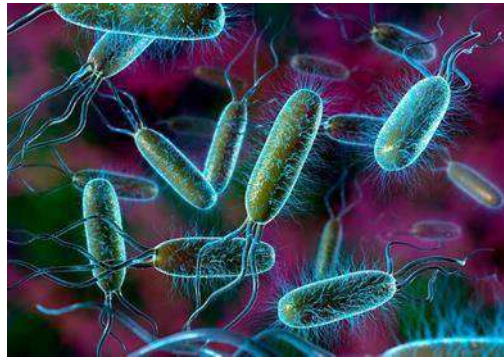


### 2.4.2 *Escherichia coli*

*E. coli* merupakan bakteri yang terdapat dalam usus manusia yang berfungsi menekan pertumbuhan bakteri jahat dan membantu proses pencernaan dan pembusukan sisa-sisa makanan dalam usus besar, selain itu *E. coli* juga mampu menghasilkan vitamin K didalam tubuh (Kuswiyanto, 2015). Bakteri *E. coli* dapat tumbuh berlebihan jika mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi. Infeksi bakteri *E. coli* menyebabkan penyakit diare pada manusia. Bakteri tersebut mengkontaminasi makanan terutama yang mengandung protein dan dapat menginduksi keracunan makanan. *E. coli* jika populasinya besar dan ketika berada di luar lingkungan aslinya, bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan ekserotoksin yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Purwanto dan Irianto, 2022). Salah satu upaya yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai infeksi yaitu menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak terkendali atau tidak sesuai dengan penggunaannya menyebabkan resistensi. Resistensi antibiotik dapat diatasi melalui penggunaan antibiotik baru. Menurut ITIS (2012), klasifikasi bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut:

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| Kindom  | : Bacteria                |
| Devisi  | : Proteobacteria          |
| Kelas   | : Gammaproteobacteria     |
| Ordo    | : Enterobacteriales       |
| Familia | : Enterobacteriaceae      |
| Genus   | : Escherichia             |
| Spesies | : <i>Escherichia coli</i> |

*E. coli* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1.0-1.5µm x 2.0-6.0µm, memiliki simpai, tidak motil dengan flagela, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi (Rahayu et al., 2018). *E. coli* tumbuh optimal pada suhu antara 35-37°C dengan pH 7-7,5. Bakteri *E. coli* disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli*.  
Sumber: Maghfiroh et al., (2021).

Bakteri *E. coli* dapat menjadi resisten terhadap antibiotik melalui beberapa mekanisme. Pada mekanisme produksi enzim  $\beta$ -laktamase *E. coli* menghasilkan enzim  $\beta$ -laktamase yang mampu menghidrolisis antibiotik  $\beta$ -laktam termasuk penicillin dan sefalosporin. Enzim ini membuat antibiotik tidak efektif dalam menghambat sintesis dinding sel (Normaliska et al., 2019). Pada mekanisme modifikasi target antibiotik *E. coli* mengalami mutasi pada gen *gyrA* dan *parC* yang mengkode DNA gyrase dan topoisomerase IV, sehingga antibiotik fluoroquinolon tidak dapat menghambat replikasi DNA. Mutasi ini menyebabkan bakteri tetap dapat berkembang biak meskipun terkena antibiotik (Agustin et al., 2022). Resistensi antibiotik melalui mekanisme efluks antibiotik membuat pompa efluks pada membran sel *E. coli* memompa keluar antibiotik sebelum mencapai konsentrasi yang cukup untuk membunuh bakteri. Mekanisme ini sering ditemukan pada resistensi terhadap tetrasiklin dan flurokuinon (Utami, 2013). *E. coli* dapat mengurangi ekspresi porin, yaitu protein yang memungkinkan antibiotik masuk ke dalam sel. Dengan berkurangnya porin, antibiotik seperti karbapenem menjadi kurang efektif dalam menembus membran sel bakteri. *E. coli* juga memperoleh gen resistensi melalui plasmid, transposon atau integron yang memungkinkan penyebaran resistensi antar bakteri. Transfer gen ini sering terjadi di lingkungan rumah sakit dan peternakan (Normaliska et al., 2019).

## 2.5 Mekanisme Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang mengganggu pertumbuhan bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu proses pertahanan hidup mikroba yang merugikan (Bamasri, 2021). Sifat-sifat antibakteri yaitu bakterisida (zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme) dan bakteriostatik (zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme) (Magani et al., 2020). Efektivitas ekstrak atau zat sebagai antibakteri bervariasi, tergantung pada jenis ekstrak dan bakteri target. Efektivitas ekstrak diukur saat menghambat bakteri melalui zona hambat dan Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) (Weldy et al., 2022). Faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas ekstrak sebagai antibakteri yaitu jenis ekstrak dan bahannya, senyawa aktif yang terkandung, pelarut ekstrak dan konsentrasi ekstrak (Aslamiyah et al., 2023). Mekanisme antibakteri dapat terjadi melalui berbagai cara yaitu;

### 1. Merusak dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang disebut dinding sel, dinding sel dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma. Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah bentuk setelah selesai sehingga lapisan dinding tidak terbentuk dan menyebabkan kematian (Chairani et al., 2018).

### 2. Mengubah permeabilitas sel

Antibakteri bekerja dengan merusak struktur dinding sel dalam kemudian antibakteri tersebut bergabung dengan membran sel sehingga menyebabkan kebocoran dan keluarnya zat-zat penting dari sel. Kebocoran ini bisa disebabkan oleh gangguan pada struktur lipid membran yang menyebabkan perubahan morfologi sel dan akhirnya lisis (Nababan et al., 2020).

### 3. Menghambat sintesis protein

Antibakteri memberikan efek dengan cara bereaksi pada sub unit 50S ribosom dan menghalangi aktivitas enzim peptidil transferase. Enzim ini berfungsi untuk membentuk ikatan peptida antara asam amino baru yang masih melekat pada tRNA dengan asam amino terakhir yang sedang berkembang. Akibatnya, sintesis protein akan terhenti seketika (Sukarya et al., 2021).

#### 4. Menghambat sintesis asam nukleat

Mekanisme antibakteri bekerja dengan mengganggu proses replikasi (per-banyakan) dan transkripsi (pembuatan RNA) DNA, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak (Alouw et al., 2022).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada Januari 2024 – Januari 2025 di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Rotary Evaporator dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian terdapat pada Tabel 2 dan 3

Tabel 2. Bahan yang digunakan

| No  | Nama                      | Spesifikasi                                            | Merek    | Kegunaan/fungsi                                                                             |
|-----|---------------------------|--------------------------------------------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | <i>Malt extract</i>       | 105391 <i>Malt</i>                                     | Milipore | Bahan media kultur.                                                                         |
| 2.  | <i>Yeast extract</i>      | 103753 <i>Yeast</i>                                    | Milipore | Bahan media kultur.                                                                         |
| 3.  | <i>Peptone</i>            | 107228 <i>Buffered Peptone</i>                         | Milipore | Bahan media kultur.                                                                         |
| 4.  | Agar                      | GRM026 <i>Agar powder</i>                              | Himedia  | Bahan media kultur.                                                                         |
| 5.  | <i>Nutrient Agar (NA)</i> | 105450 <i>Nutrient agar</i>                            | Milipore | Bahan media kultur.                                                                         |
| 6.  | Kloramfenikol             | -                                                      |          | Antibiotik dan kontrol +                                                                    |
| 7.  | Isolat jamur simbiosis    | -                                                      |          | Isolat yang akan diekstraksi dan diuji aktivitas.                                           |
| 8.  | Bakteri MDR               | <i>Escherichia coli</i> & <i>Staphylococcus aureus</i> |          | Bakteri patogen.                                                                            |
| 9.  | Aquades steril            | -                                                      |          | Sebagai pelarut media, sterilisasi menggunakan autoklaf dan larutan saat pemisahan senyawa. |
| 10. | Air laut steril           | -                                                      |          | Sebagai pelarut media.                                                                      |

Tabel 2. (Lanjutan) Bahan yang digunakan

|     |                               |                             |          |                                                        |
|-----|-------------------------------|-----------------------------|----------|--------------------------------------------------------|
| 11. | Alkohol 70% (Teknis)          | -                           | OneMed   | Sterilisasi alat dan sterilisasi diri saat pengerjaan. |
| 12. | Metanol 70% (Teknis)          | -                           |          | Pelarut dalam ekstraksi.                               |
| 13. | Etil asetat 95% (ProAnalisis) | 109623 <i>Ethyl acetate</i> | Milipore | Sebagai larutan dalam pemisahan senyawa.               |
| 14. | n-Heksana 95% (ProAnalisis)   | 104367 <i>n-Hexane</i>      | Milipore | Sebagai larutan saat pemisahan senyawa.                |
| 15. | Vanilin                       | 818718 Vanillin             | Milipore | Bahan pereaksi.                                        |
| 16. | Etanol 95% (ProAnalisis)      | 100983 Ethanol              | Milipore | Sebagai larutan untuk pereaksi.                        |
| 17. | Spiritus                      | -                           |          | Bahan bakar bunsen.                                    |
| 18. | Gas Nitrogen                  | -                           |          | Mengeringkan ekstrak.                                  |

Tabel 3. Alat yang digunakan

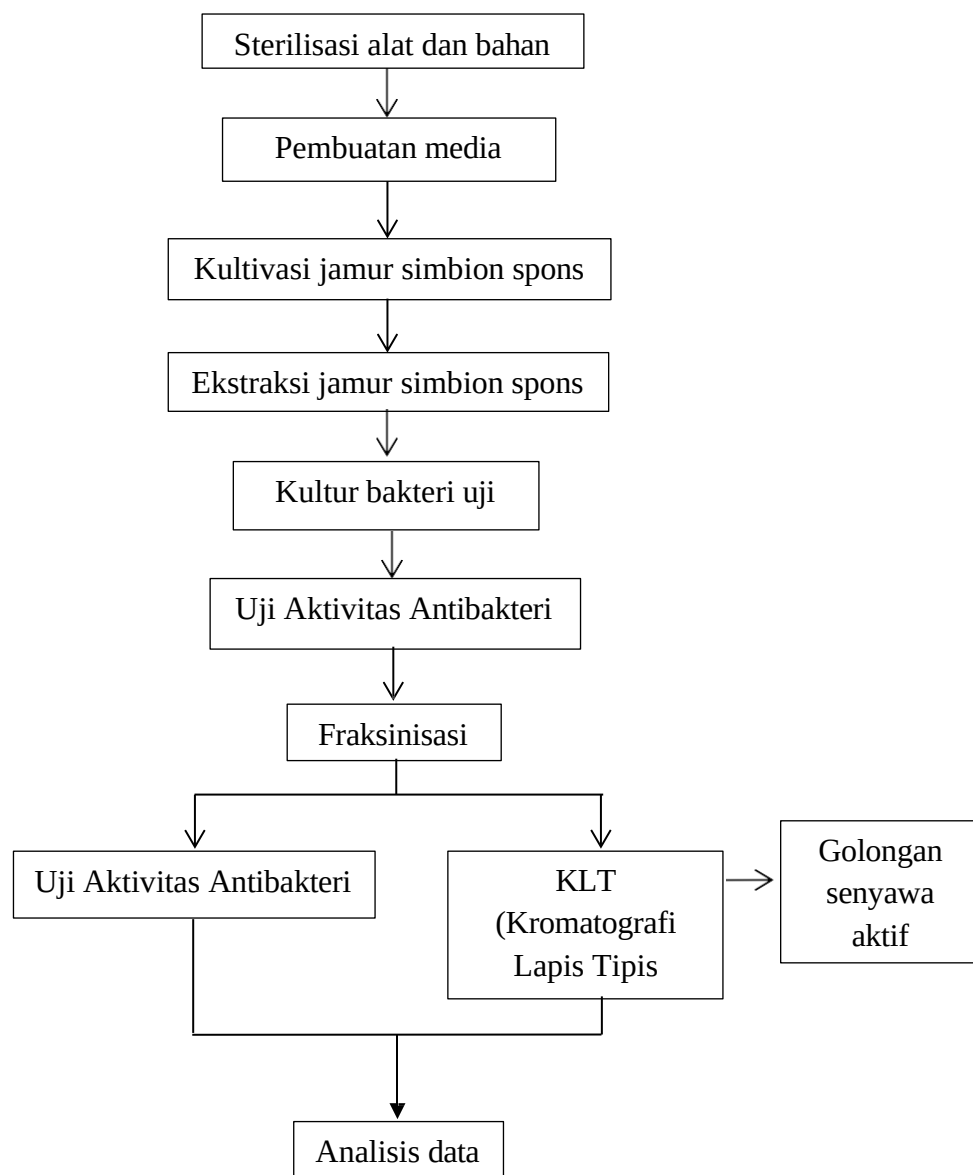
| No  | Nama Alat                | Deskripsi                                       | Merek   | Kegunaan/fungsi                             |
|-----|--------------------------|-------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------|
| 1.  | Autoklaf                 | Pressure steam sterilizer<br>YXQ.SG41.280<br>CS |         | Mensterilisasikan alat dan bahan.           |
| 2.  | Cawan petri              | 100x15mm <sup>2</sup>                           | Anumbra | Wadah pertumbuhan media dan mikroba.        |
| 3.  | Bunsen                   | -                                               |         | Sterilisasi didalam Laminar air flow.       |
| 4.  | Tabung reaksi            | 15x150mm                                        | Iwaki   | Wadah pertumbuhan bakteri patogen.          |
| 5.  | Rak tabung reaksi        | -                                               |         | Menyimpan dan menata tabung reaksi.         |
| 6.  | <i>Erlenmeyer</i>        | 300ml                                           | Iwaki   | Wadah pembuatan media dan ekstraksi.        |
| 7.  | <i>Hot plate</i>         | Hot plate<br>magnetic stirrer<br>SH-2           |         | Memanaskan media.                           |
| 8.  | Timbangan digital        | -                                               |         | Menimbang media.                            |
| 9.  | <i>Magnetic stirrer</i>  | -                                               |         | Menghomogenkan media.                       |
| 10. | Gelas ukur               | 100mL                                           |         | Mengukur volume media dan larutan.          |
| 11. | Plastik tahan panas      | 20x25                                           |         | Membungkus alat dan bahan saat sterilisasi. |
| 12. | Kasa dan kapas           | -                                               |         | Menutup wadah pembuatan media.              |
| 13. | Karet gelang             | -                                               |         | Mengikat atau merekatkan plastik.           |
| 14. | <i>Cooled incubator</i>  | FOC-215i                                        |         | Menyimpan media kosong.                     |
| 15. | <i>Laminar air Flow</i>  | HVS 1300                                        | Airtech | Tempat kultur bakteri dan uji aktivitas.    |
| 16. | <i>Rotary evaporator</i> | -                                               |         | Mengkentalkan ekstrak.                      |

Tabel 3. (Lanjutan) Alat yang digunakan

|     |                                 |                                    |                   |                                                          |
|-----|---------------------------------|------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------|
| 17. | Jarum ose                       | -                                  |                   | Inokulasi mikroba pada media.                            |
| 18. | Botol kaca                      | 500mL                              |                   | Untuk kultivasi isolat jamur.                            |
| 19. | Spatula                         | -                                  |                   | Memindahkan jamur.                                       |
| 20. | Mortar dan alu                  | -                                  |                   | Menghaluskan jamur kasar.                                |
| 21. | <i>Ultrasonic cleanser bath</i> | GA-008                             | Taffware          | Peleburan ekstrak dan pembuahan senyawa ekstrak.         |
| 22. | Label                           | -                                  |                   | Melabeli isolat.                                         |
| 23. | Plastik wrap                    | -                                  |                   | Membungkus tepian cawan dan tabung reaksi.               |
| 24. | Kertas saring                   | 150mm                              | Whatman No 42     | Menyaring rendaman ekstrak.                              |
| 25. | Corong                          | 90mm                               | Iwaki             | Memindahkan larutan.                                     |
| 26. | Botol vial                      | 10mL                               |                   | Tempat ekstrak.                                          |
| 27. | Inkubator                       | BC60                               | Froilabo          | Tempat inkubasi mikroba.                                 |
| 28. | <i>Vortex</i>                   | Sa8                                | Stuart Scientific | Menghomogenkan larutan bakteri.                          |
| 29. | <i>Paper disc</i>               | 6 mm                               |                   | Uji aktivitas antibakteri.                               |
| 30. | Mikropipet                      | 100-1000µl & 20-200µl              | Dragonlab & Dumo  | Memindahkan larutan, cairan mikroba dan larutan ekstrak. |
| 31. | <i>Spreader</i>                 | -                                  |                   | Meratakan bakteri uji pada media agar.                   |
| 32. | Pinset                          | -                                  |                   | Mengambil dan meletakkan kertas cakram.                  |
| 33. | Jangka sorong                   | -                                  |                   | Mengukur zona bening.                                    |
| 34. | Masker                          | -                                  | OneMed            | Alat perlindungan saluran pernapasan.                    |
| 35. | Jas labolatorium                | -                                  |                   | Alat perlindungan tubuh.                                 |
| 36. | Sarung tangan medis             | ukuran M                           | OneMed            | Melindungi tangan                                        |
| 37. | Corong pemisah                  | 250Ml                              | Phyrex            | Pemisahan senyawa berdasarkan larutan.                   |
| 38. | <i>Chamber KLT</i>              | 6x10                               |                   | Wadah pemisahan senyawa.                                 |
| 39. | Plat KLT                        | TLC Silica gel 60 F <sub>254</sub> |                   | Pemisahan dan karakterisasi senyawa.                     |
| 40. | Lampu UV                        | -                                  |                   | Pengamatan hasil pemisahan senyawa.                      |
| 41. | Pipa kapiler Hematokrit         | 1,1-1,2 mm                         |                   | Memberikan ekstrak pada plat KLT.                        |

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian merupakan langkah-langkah yang akan digunakan secara bertahap untuk memperoleh data yang diinginkan. Prosedur penelitian yang digunakan mencakup tahap sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, tahap kultivasi, tahap ekstraksi, tahap kultur bakteri, tahap pemurnian, tahap pelaksanaan uji dan tahap identifikasi senyawa. Adapun diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Prosedur penelitian.



### 3.3.1 Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan harus dalam keadaan steril. Ada dua cara sterilisasi yang dilakukan yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara sterilisasi kering menggunakan alkohol 70%. Sterilisasi basah menggunakan autoklaf digunakan untuk alat yaitu cawan petri, tabung reaksi dan erlenmeyer. Media yang terdiri dari media MEA, media MEB, media Zobell, dan media NA disterilkan menggunakan autoklaf. Tahapan sterilisasi menggunakan autoklaf yaitu sebagai berikut:

1. Alat yang akan digunakan dicuci.
2. Alat yang sudah dicuci kemudian dikeringkan.
3. Alat yang terbuat dari kaca dibungkus menggunakan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas.
4. Autoklaf dinyalakan hingga mencapai suhu 121°C dan tekanan 1 atm.
5. Timer dinyalakan selama 15- 20 menit.
6. Setelah proses selesai, autoklaf dimatikan dan dibiarkan hingga suhunya turun.
7. Setelah suhu turun, alat dan bahan dikeluarkan dengan hati-hati .

### 3.3.2 Pembuatan media

Pembuatan media dilakukan melalui serangkaian tahapan yang terkontrol untuk memastikan media memenuhi standar kualitas yang diperlukan dalam penelitian. Media yang digunakan dalam penelitian adalah media *Nutrient Agar* (NA), media *Malt Extract Agar* (MEA), media *Malt Extract Broth* (MEB) dan media *Zobell*. Media-media tersebut dipilih berdasarkan kemampuan masing-masing media dalam mendukung pertumbuhan mikroba. Pembuatan media tersebut dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan, setiap komponen media yang dibutuhkan dalam pembuatan masing-masing media ditimbang menggunakan timbangan analitik digital sesuai dengan formulasi yang tercantum. Komposisi bahan untuk pembuatan media disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi pembuatan media dalam 1.000 ml

| Media                              | Bahan            | Komposisi (gr) |
|------------------------------------|------------------|----------------|
| <i>Nutrient Agar</i><br>(NA)       | Nutrient Agar    | 22             |
| <i>Malt Extract Agar</i><br>(MEA)  | Malt             | 3              |
|                                    | Yeast            | 3              |
|                                    | Peptone          | 5              |
|                                    | Agar             | 15             |
|                                    | Kloramfenikol 1% | 100 mg         |
| <i>Malt Extract Broth</i><br>(MEB) | Malt             | 3              |
|                                    | Yeast            | 3              |
|                                    | Peptone          | 5              |
|                                    | Kloramfenikol 1% | 100 mg         |
| <i>Zobell</i>                      | Peptone          | 2,5            |
|                                    | Yeast            | 0,5            |
|                                    | Agar             | 15             |

(Sumber: Susanti et al., 2023).

2. Bahan-bahan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer bervolume 1.000 ml dan ditambahkan aquades sebanyak 1.000 ml ke dalam masing-masing erlenmeyer.
3. Bahan kemudian dipanaskan menggunakan hotplate magnetic stirrer agar homogen.
4. Setelah dihomogenkan, media disterilisasi menggunakan autoklaf.
5. Media yang telah steril dipindahkan kedalam cawan petri dan tabung reaksi dan disimpan di dalam lemari pendingin.

### 3.3.3 Kultivasi

Isolat jamur simbion spons terlebih dahulu diperbanyak dengan ditumbuhkan pada media MEA (*Malt Extract Agar*). Tahapan yang dilakukan mengacu pada metode isolasi jamur oleh Sihombing et al., (2017). Adapun tahapan kultivasi yaitu:

1. Isolat jamur koleksi laboratorium dipotong bersama dengan medianya dengan bentuk persegi menggunakan jarum ose. Sebelumnya jarum ose dibakar menggunakan bunsen dan dicelupkan pada alkohol agar steril.
2. Potongan isolat jamur koleksi laboratorium ditumbuhkan kedalam cawan media MEA.

3. Cawan dilabel sesuai dengan jenis isolatnya dan pinggir cawan di rapatkan menggunakan *plastic wrap*.
4. Cawan yang berisi isolat jamur kemudian diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 35° C selama 7 hari hingga jamur tumbuh menutupi media.
5. Setelah jamur tumbuh menutupi media, jamur dikulturkan pada media cair MEB sebanyak 100 ml di botol kaca dengan cara mengiris sebagian jamur beserta media yang telah ditumbuhkan pada media MEA.
6. Irisan jamur diletakkan pada permukaan media MEB (*Malt Extract Broth*).
7. Botol kaca diberi label kode isolat dan tanggal. Masing-masing satu botol kaca berisi satu jenis isolat jamur.
8. Media diinkubasi selama 21-25 hari hingga jamur tumbuh memenuhi permukaan media.

#### **3.3.4 Ekstraksi jamur simbion spons**

Jamur yang tumbuh menutupi media MEB dan tidak mengalami kontaminasi kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi berdasarkan Herdiansyah et al., (2015) yang disesuaikan dan dimodifikasi. Tahapan ekstraksi dengan metode maserasi yaitu:

1. Jamur diambil menggunakan spatula, lalu ditimbang dengan timbangan analitik.
2. Jamur dihancurkan menggunakan mortal dan alu hingga halus.
3. Jamur kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan diberi pelarut metanol dengan perbandingan 1:5.
4. Jamur kemudian dimaserasi selama 7x24 jam.
5. Selama maserasi dilakukan sonikasi setiap hari selama 30 menit menggunakan *ultrasonic cleaner bath*, alat ini menghasilkan getaran yang diduga mampu untuk mengeluarkan atau meleburkan senyawa ekstrak (Sholihah et al., 2017).
6. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring, filtrat ditampung didalam erlenmeyer.
7. Sisa penyaringan berupa residu dimaserasi kembali menggunakan metanol sebanyak 2x masing-masing selama 7x24 jam.

8. Setelah 7x24 hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring.
9. Hasil penyaringan 1,2, dan 3 diuapkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarut teruapkan.
10. Ekstrak kasar ditampung didalam botol vial, kemudian ekstrak kasar dikeringkan menggunakan gas nitrogen hingga menjadi ekstrak kering.
11. Ekstrak kering kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik untuk mengetahui berat ekstrak.
12. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus menurut Wahyuni & Widjanarko (2015), yaitu:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel fungi}} \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

### 3.3.5 Kultur bakteri MDR *S.aureus* dan *E. coli*

Bakteri MDR koleksi laboratorium yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dilakukan peremajaan atau kultur ke dalam media *Zobell* cair. Adapun tahapan kultur yaitu:

1. Bakteri MDR koleksi laboratorium yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri perlu diinokulasi dengan cara diambil satu goresan menggunakan jarum ose.
2. Bakteri yang sudah diambil, dimasukkan ke dalam media *Zobell* cair.
3. Media dalam tabung berisi bakteri dihomogenkan menggunakan *vortex*.
4. Bakteri diinkubasi di inkubator pada suhu 35°C selama 24 jam hingga bakteri tumbuh.

### 3.3.6 Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri MDR

Uji aktivitas ekstrak jamur simbion spons dilakukan untuk melihat aktivitas daya hambat terhadap bakteri patogen. Uji aktivitas dilakukan dengan metode difusi cakram. Aktivitas ekstrak jamur simbion spons terhadap bakteri patogen diukur berdasarkan diameter zona hambat atau zona bening. Uji aktivitas ekstrak jamur simbion spons dilakukan dicawan berisi media *Zobell* tawar padat, yang dituang bakteri dan diletakkan kertas cakram yang sudah diberi ekstrak. Metode difusi yang digunakan adalah metode difusi agar, metode ini mengacu dari Andika

et al., (2016) yang disesuaikan. Adapun tahapan pelaksanaan uji aktivitas antibakteri yaitu:

1. Bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* yang telah dikultur kedalam media *Zobell* cair diambil sebanyak 70 µl menggunakan mikropipet dan dituang kedalam media agar *Zobell*.
2. Bakteri diratakan menggunakan *spreader*.
3. Pengenceran ekstrak jamur simbiosis dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 10 ppm; 100 ppm. Larutan stok awal yaitu 100 ppm dibuat dengan melarutkan 0,2 mg ekstrak kedalam 2 ml metanol.
4. Dilakukan pengenceran bertingkat untuk mendapatkan konsentrasi 10 ppm. Pengenceran ini dibuat sebanyak 1 ml dengan pelarut metanol. Persamaan yang digunakan dalam pengenceran bertingkat ini adalah:
 
$$V_1.M_1=V_2.M_2..... (3)$$
5. Kertas cakram yang akan digunakan ditetaskan ekstrak yang sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang digunakan sebanyak 15 µl menggunakan mikropipet, dua kertas cakram lainnya digunakan untuk kontrol positif menggunakan kloramfenikol 1% dan kontrol negatif menggunakan metanol.
6. Kertas cakram yang sudah ditetesi ekstrak diletakkan menggunakan pinset pada media agar *Zobell* yang sudah berisi bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.
7. Kemudian diinkubasi menggunakan inkubator selama 1-2 hari untuk diamati aktivitas zona hambat.
8. Pengamatan dilakukan pada waktu 24 jam dan 48 jam, zona hambat yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong.
9. Zona hambat yang telah diukur, kemudian dihitung menggunakan persamaan dan dikategorikan berdasarkan kategori zona hambat menurut Nopiyanti et al. (2016);

Tabel 5. Kategori diameter zona hambat (Nopiyanti et al., 2016)

| Daya Hambat Bakteri | Kategori    |
|---------------------|-------------|
| $\geq 20$ mm        | Sangat kuat |
| 10-20 mm            | Kuat        |
| 5-10 mm             | Sedang      |
| $\leq 5$ mm         | Lemah       |

### 3.3.7 Fraksinisasi ekstrak

Fraksinisasi ekstrak dilakukan menggunakan corong pisah/ *Separatory funnel*. Tahapan pada metode ini mengacu dari Ayer et al., (2021) yakni sebagai berikut:

1. Ekstrak kasar jamur simbion spons yang diperoleh dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 15 ml di erlenmeyer.
2. Larutan ekstrak aquades 15 ml dimasukkan ke dalam corong pisah.
3. Setelah itu ditambahkan larutan etil asetat sebanyak 45 ml ke dalam corong pisah. Perbandingan larutan yang digunakan dalam fraksinisasi adalah 1:3.
4. Larutan dalam corong pisah dihomogenkan dengan cara dikocok.
5. Setelah homogen dan terbentuk lapisan larutan air dan etil asetat, masing-masing larutan ditampung ke dalam wadah yang berbeda.
6. Kedua larutan dikeringkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotary evaporator*.
7. Maka diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat.

### 3.3.8 Uji aktivitas ekstrak fraksi terhadap bakteri MDR

Hasil dari tahapan fraksinisasi menghasilkan dua fraksi ekstrak jamur simbion spons yaitu, fraksi etil asetat dan fraksi air. Kedua fraksi ekstrak tersebut digunakan untuk uji aktivitas antibakteri, uji aktivitas ini dilakukan untuk menentukan fraksi terbaik yang memiliki aktivitas atau zona hambat terhadap bakteri MDR. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram mengacu dari Pasodung et al., (2018).

1. Cawan berisi bakteri uji *S.aureus* dan *E. coli* yang sudah diratakan menggunakan spreader kemudian diletakkan kertas cakram yang sudah ditetesi ekstrak sebanyak 15 µl, dua kertas cakram lainnya digunakan untuk kontrol positif menggunakan kloramfenikol 1% dan kontrol negatif menggunakan etil asetat. Konsentrasi yang digunakan yaitu 15 ppm.
2. Media *Zobell* diinkubasi menggunakan inkubator selama 1-2 hari untuk diamati aktivitas zona hambat.
3. Pengamatan dilakukan pada waktu 24 jam dan 48 jam, zona bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

4. Zona hambat yang telah diukur, kemudian dihitung menggunakan persamaan (4).
5. Fraksi yang memiliki zona hambat terbesar dilakukan pemisahan senyawa.

### 3.3.9 Pemisahan senyawa ekstrak fraksi etil asetat

Fraksi terbaik dilihat dari zona hambat terbesar pada tahap fraksinisasi, fraksi terbaik dipilih untuk dipisahkan lagi dengan menggunakan metode KLT dengan menggunakan pereaksi semprot vanilin asam sulfat. Tahapan cara kerja KLT & KKT mengacu dari Hujjatusnaini et al., (2021). Pelaksanaan KKT diawali dengan penentuan fase diam dan fase gerak. Fase gerak ditentukan dalam metode KLT. Adapun tahapan pelaksanaan KLT yaitu:

1. Plat silika gel GF<sub>254</sub> dipotong dengan ukuran 2 x 4 cm.
2. Plat diberi tanda 1 cm dari ujung bawah plat sebagai titik awal dan diberi tanda 0,5 cm dari atas plat sebagai batas atas.
3. Fraksi terpilih diteteskan atau ditotolkan di titik awal plat KLT menggunakan pipa kapiler.
4. Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* KLT tertutup yang berisi pelarut Etil asetat:n-Heksana dengan menggunakan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1.
5. Setelah pelarut atau eluen mencapai batas atas, plat KLT dikeluarkan dan dikeringkan.
6. Hasil KLT akan muncul bercak atau noda pada plat yang kemudian diamati menggunakan lampu UV 254nm.
7. Bercak atau noda yang terbentuk pada plat KLT dihitung nilai Rf (*Retention factor*). Nilai Rf dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Husna & Ratnawulan, 2020).

$$Rf = \frac{\text{Jarak dari titik awal hingga ke bercak}}{\text{Jarak dari titik awal hingga ke batas atas}}. \dots\dots(4)$$

8. Dalam mendeteksi senyawa ekstrak fraksi digunakan pereaksi vanilin asam sulfat yang terbuat dari 1 gr vanilin ditambahkan 2 ml asam sulfat 95% dan 100 ml etanol 95%.

9. Plat yang sudah kering disemprotkan vanilin asam sulfat lalu dipanaskan dengan suhu 110°C selama 5 menit.
10. Warna yang muncul pada plat KLT diamati.

### 3.3.10 Analisis data

Data hasil uji aktivitas ekstrak kasar dan uji aktivitas fraksi dikolektif dan diolah serta dihitung nilai standar deviasinya menggunakan *Microsoft Excel 2010*. Data hasil pengukuran zona hambat dianalisis secara kuantitatif dengan uji statistik parametrik menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistik versi 29. Data disajikan dalam bentuk diagram dengan nilai rerata  $\pm$  standar deviasi. Analisis data statistik menggunakan uji-T untuk membandingkan antar konsentrasi uji 10 ppm dan 100 ppm. Uji-T digunakan untuk melihat apakah ada perbedaan signifikan antar dua kelompok data konsentrasi yang berbeda pada satu cawan yang sama. Data hasil KLT yang diperoleh dilihat berdasarkan noda atau bercak dan warna yang terbentuk pada plat dibawah sinar UV dan perhitungan nilai Rf. Nilai Rf dan warna yang terbentuk digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung. Analisis data menggunakan uji-T mengacu dari Nuryadi et al., (2017) dilakukan melalui beberapa tahapan:

1. Memasukkan data hasil pengukuran ke dalam lembar kerja IBM SPSS pada menu data view, dengan setiap kolom mewakili variabel dan setiap baris mewakili ulangan.
2. Melakukan uji-t dengan menggunakan Independent Samples T test untuk membandingkan 2 kelompok berbeda.
3. Menafsirkan hasil uji-T berdasarkan nilai signifikansi (Sig. 2-tailed) yang ditampilkan pada tabel output spss. Hasil analisis dinyatakan berbeda nyata (signifikan) apabila nilai  $p\text{-value} \leq 0,05$  pada taraf kepercayaan 95%



## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak jamur simbion spons memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*). Hasil uji aktivitas menunjukkan aktivitas terhadap bakteri MDR *S. aureus* lebih besar dibandingkan terhadap bakteri MDR *E. coli*.
2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak fraksinisasi jamur simbion spons, fraksi etil asetat menghasilkan aktivitas lebih besar dibandingkan fraksi aquades. Isolat yang memiliki aktivitas terbaik yaitu isolat SF-03 pada fraksi etil asetat.
3. Karakterisasi senyawa dengan visualisasi hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menghasilkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat jamur simbion spons diduga termasuk golongan steroid.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif secara lebih mendalam menggunakan analisis kromatografi untuk memastikan profil senyawa lebih detail, serta homogenitas kondisi awal bakteri uji perlu diperhatikan sehingga variasi antar ulangan dalam uji aktivitas antibakteri dapat diminimalkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., Wahyudi, A. T., & Yuhana, M. (2011). Skrining bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis sp.* sebagai penghasil senyawa antimikroba. *ILMU KELAUTAN*, 16(1), 35-40. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.16.1.35-40>
- Agustin, A. L. D., Ningtyas, N. S. I., Tirtasari, K., & Mega, T. (2022). Resistensi antibiotik terhadap *Escherichia coli* yang diisolasi dari ayam layer di Desa Sesaot Kabupaten Lombok Barat. *Media Kedokteran Hewan*, 33(2), 87-95. <https://doi.org/10.20473/mkh.v33i2.2022.87-95>
- Aini, M. (2023). The effect of modified media on the antibacterial activity of the sea sponge symbion fungi, *Fusarium solani*. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3), 546-553. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5281>
- Akbar, A., Mayaguezz, H., & Susanti, O. (2023). Struktur komunitas karang dan ikan karang di perairan pulau pahawang. *Journal of Marine Research*, 14(2)243-253. <https://doi.org/10.741/jmr.v14i2.46185>
- Alen, Y., Agresa, F. L., & Yuliandra, Y. (2017). Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan aktivitas antihiperurisemia ekstrak rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz ( Kurz) pada mencit putih jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Kimia*, 3(2), 146-152. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.3.2.141>
- Alouw, G. E. C., Fatimawali., & Lebang, J. S. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi sumuran. *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36-44. <https://doi.org/10.35799/pmj.v5i1.41430>
- Ambarwati, D. R. (2018). Uji aktivitas infusa daun kersen dan serbuk instan perasan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap peningkatan daya ingat mencit putih (*Mus musculus*) dengan metode morris water maze. (Skripsi, Universitas Setia Budi). Repository Universitas Setia Budi.

- Andika, A., Trianto, A., & Santoso, A. (2016). Eksplorasi jamur simbion pada spons *Demospongiae* yang dikoleksi dari Perairan Kupang penghasil bahan antibakteri Multidrug Resistant (MDR). *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke- V Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan* (pp 511-518)
- Angelina, M., Turnip, M., & Khotimah, S. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Probiot*, 4(1), 184-189. <https://jurnal.untan.ac.id>
- Ashok, A., Doriya, K., Rao, J. V., Qureshi, A., Tiwari, A. K., & Kumar, D. S. (2019). Microbes producing l-asparaginase free of glutaminase and urease isolated from extreme locations of antarctic soil and moss. *Scientific Reports*, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38094-1>
- Aslamiyah, Q. N., Kamaruddin, M., & Arnov, S. T. (2023). Uji efektivitas ekstrak etanol daun jambu bbiji merah (*Psidium guajava L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* penyebab periodontitis. *Indonesian Journal of Dentistry*, 3(3), 14-21. <https://doi.org/10.26714/ijd.v3i1.11926>
- Atkovasko, T., Klingler, J., Oberwinkler, J., Keller, S., & Hub, J. S. (2018). Rationalizing steroid interactions with lipid membranes: conformations, partitioning, and kinetics. *ACS Central Science*, 4(9), 1155-1165. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.8b00332>
- Ayer, P. I. L., Rejauw, K., & Indrayani, E. (2021). Skrining potensi antijamur dari jamur simbion spons terhadap jamur *Trichophyton sp.* *Jurnal Ilmu Kelautan Dan Perikanan Papua*, 4(2), 82-88. <https://doi.org/10.31957/acr.v4i2.2816>
- Ayer, P. I. L., Sabdono, A., & Trianto, A. (2018). Aktivitas jamur simbion spons terhadap jamur *Trichophyton sp.* di pulau biak, kabupaten biak numfor, papua. *Jurnal Acropora Ilmu Kelautan dan Perikanan Papua*, 1(1), 50-57. <https://doi.org/10.31957/v1i1.507>
- Bamasri, T. P. (2021). Daun kersen *Muntingia calabura* sebagai antibakteri. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(2), 231-236. <https://doi.org/10.37287/jppp.v3i2.396>
- Bastian, S., Rotinsulu, H., & Fatimawali. (2018). Uji aktivitas antimikroba dari jamur laut yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia sp.* *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(3), 311-320. <https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.20572>
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Natural Reviews Microbiol*, 13(1), 42-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro380>

- Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H. G., & Prinsep, M. R. (2015). Marine natural product. *Natural Product Reports*, 32(2), 116-211. <https://doi.org/10.1039/c4np00144c>
- Carrier, T. J., Maldonado, M., Schmittman, L., Pita, L., Bosch, T. C. G., & Hentschel, U. (2022). Symbiont transmission in marine sponge: reproduction, development, and metamorphosis. *BMC Biology*, 20(100), 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01291-6>
- Casertano, M., Menna, M., & Imperatore, C. (2020). The ascidian-derived metabolites with antimicrobial properties. *Antibiotics*, 9(510), 1-30. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9080510>
- Chairani, A., & Harfiani, E. (2018). Efektivitas getah jarak sebagai antiseptik terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida sp.* secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 2(2), 84-92. <https://doi.org/10.23960/jkunila.v2i2.pp84-92>
- Dewi, M. K., Ratnasari, E., & Trimulyono, G. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu, *LenteraBio*, 3(1), 51-57. <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- Donnaliazarti. (2022). Mekanisme resistensi terhadap anti mikroba. *Collaborative Medical Journal*, 5(3), 37-45. <https://doi.org/10.36341/cmh.v5i3.3247>
- Ejaz, S., Nasim, F. U., Abdullah, I., Rashid, S., & Ashraf, M. (2023). Analysis of antibacterial and cytotoxic potential of medicinal plants from cholistan desert, pakistan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(9), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103750>
- Enih Rosamah. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis:Metode Sederhana Dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Mulawarman University Press.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T. (2016). Identifikasi infeksi multi-drug-resistant organisms (MDRO) pada pasien yang dirawat di bangsal neonatal intensive care unit (NICU) rumah sakit. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*, 6(3), 243-248. <https://doi.org/10.22146/jmpf.351>
- Firdaus, I., Retnowati, R., & Sutrisno. (2015). Fraksinisasi ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera castur Kosterm*) dengan pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, 1(1), 785-790. <https://media.neliti.com/media/publication/250050-fraksinisasi-ekstrak-metanol-daun-mangga-k-d782d873.pdf>
- Firdiyani, F., Tri, W. A., & Widodo, F. M. (2015). Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *Spirulina plantenis* segar dengan pelrut yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan ndonesia*, 18(1), 28-37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>

- Forestrayana, D. A. (2020). Phytochemical screenings and thin skrinng fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun jeruju (*Hydrolea spinosa* L.). *Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113-124. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- Golbabaie, A., Nouri, H., Moghimi, A., & Khaleghian, A. (2020). I-asparaginase production and enhancement by *sarocladium strictum*: in vitro evaluation of anti-cancerous properties. *Journal of Applied Microbiology*, 129(2), 356-366. <https://doi.org/10.1111/jam.14623>
- Gusti, A. P. W. P. D. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). (No Publikasi 2995) [Skripsi, Politeknik Kesehatan Denpasar]. Repository Politeknik Kesehatan Denpasar.
- Haedar, Sadarun, B., & Palupi, R. D. (2016). Potensi keanekaragaman jenis dan sebaran spons di perairan pulau saponda laut kabupaten konawe. *Sapa Laut*, 1(1), 1-9. <https://doi.org/10.33772/jsl.v1i1.923>
- Hamami, L. P. (2020). Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada ikan asin. (No Publiasi 3849) [Skripsi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendikia Medika Jombang]. Repository Insan Cendekia Medika Jombang.
- Handayani, D., Putri, R. A., Ismed, F., Hertiani, T., Ariantari, N. P., & Proksch, P. (2020). Bioactive metabolite from marine sponge-derived fungus *Cochiobolus geniculatus* WR12. *Rasayan Journal Chem*, 6(1), 417-422. <https://doi.org/10.31788/RJC.1315517>
- Haris, A., & Jompa, J. (2021). *SPONS*. Lily Publisher.
- Harti, A. S. (2015). *Mikrobiologi Kesehatan*. Penerbit Andi.
- Herdiansyah, R., Zetra, Y., & Nugraheni, Z. V. (2015). Senyawa lipid spons *Haliclona cymaeformis* sebagai biomarka dan aktivitasnya terhadap mikroba, *Jurnal Sains dan Seni*, 4(2), 133-138. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v4i2.14011>
- Hilda & Berliana. (2015). Pola resistensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* terhadap berbagai antibiotik. *Jurnal Mahakam Husada*, 4(1), 11-17. <https://core.ac.uk/download/pdf/322635665.pdf>
- Hombach, M., Ochoa, C., Maurer, F. P., Pfiffner, T., Bottger, E. C., & Furrer, R. (2016). Relative contribution of biological variation and technical variables to zone diameter variations of disc diffusion susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), 141-151. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv309>

- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak air bunga kecombrang terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sebagai bahan pangan fungsional. *Jurnal Biologi*, 7(1), 9-15. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v7i1.2707>
- Hujjatusnaini, N. Ardiansyah, Indah, B., Afitri, E., & Widyastruti, R. (2021). *Ekstraksi*. Institut Agama Islam Negeri Palangkaraya.
- Husmayani, Wa Ode., Sadarun, B., & Palupi, R. D. (2021). Identifikasi spons berdasarkan tutupan karang di perairan sombu taman nasional wakatobi. *Sapa Laut*, 6(4), 313-322. <https://doi.org/10.33772/jsl.v6i4.21856>
- Husna, F., & Ratnawulan, M. S. (2020). Identifikasi bahan kimia dalam obat tradisional stamina pria dengan metode kromatografi lapis tipis. *Farmaka*, 18(2), 16-25. <https://doi.org/10.24198/farmaka.v18i2.25955>
- Ismail Marzuki. (2018). *Eksplorasi Spons Indonesia: Seputar Kepulauan Spermonde*. Nes Media Pustaka.
- Intergrated Taxonomic Information System. (2012). *ITIS Standart Report Page : Escherichia coli*. Taxonomic Information System:United States.
- Kane, S. N., Mishra, A., Dutta, A. K. (2016). Preface:International conference on recent trends in physics. *Journal of Phys:Conference Series*, 755(1), 1-2. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/755/1/011001>
- Kautsari, S. N., Purwakusumah, E. D., & Nurcholis, W. (2020). profil kromatografi lapis tipis ekstrak kunyit (*Curcuma longa Linn*) segar dan simpilisa dengan variasi metode ekstraksi. *Media Framasi*, 16(1), 65-70. <https://doi.org/10.32382/mf.v16i1.1403>
- Kurniawan, E., Jekti, D. S., & Zulkfli, L. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol batang bidara laut (*Strychnos ligustrna*) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1), 61-69. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Kuswiyanto. (2015). *Bakteriologi: Buku Ajar Analis Kesehatan*. Buku Kedokteran EGC.
- Lenin, H., Lauro, F., Elodia, G., Maria, L. R., Francisco, D., Eduardo, P., Marcela, R., Socorro, H., & Regina, C. (2017). Antibacterial activity exerted by some diazibicyclo-steroid derivatives against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Oriental Journal of Chemistry*, 33(5). <https://dx.doi.org/10.13005/ojc/330564>
- Lozano, C., & Torres, C. (2017). Update on antibiotic resistance in gram-positive bacteria. *Enfermedades Infecciosas Microbiologia Clinica*, 35(1), 2-8. [https://doi.org/10.1016/s0213-005X\(17\)30028-9](https://doi.org/10.1016/s0213-005X(17)30028-9)

- Madduluri, S., Rao, K. B., & Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacteria pathogens of humans. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 679-684.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7-12.  
<https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>
- Maghfiroh, L., Effendi, M. H., & Wardhana, D. K. (2021). A publication of *Escherichia coli* in veterinary medicine : insight from scientometric Analysis (2011-2020). *Interciencia Journal*, 46(6), 78-88.  
<https://www.researchgate.net/publication/352160175>
- Maisaroh, D. S., Sa'adah, N., & Sakhi, H. A. (2024). Eksplorasi agen antibakteri ekstrak spons laut yang diambil dari perairan sekitar pltu paiton probolinggo. *Jurnal Perikanan*, 14(1), 10-19.  
<https://doi.org/10.29303/jp.v14i2.677>
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, & Sahidin. (2019). Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*) dan metabolit sekunder serta potensi antibakteri ekstrak n-heksana spons *Cellyspongia aerizusa* yang diambil pada kondisi tutupan terumbu karang yang berbeda di perairan teluk staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131-141.  
<https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Martiningsih, N. W. (2014). Skrining Awal Ekstraksi Etil Asetat Spons *Dysidea* sp. Sebagai Antibakteri. Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA IV.
- Mujipradhana, N. V., Wewengkang, D. S., & Suryanto, E. (2018). Aktivitas antimikroba dari ekstrak ascidian *Herdmania momus* pada mikroba patogen manusia. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(3), 338-347.  
<https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.20601>
- Murtihapsari., Roreng, M. K., Parubak, A., & Rahman, A. (2021). Uji aktivitas antimalaria dari spons *Xestospongia* sp. asal pulau yapen secara in vivo. *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(2), 177-184.  
<https://doi.org/10.14710/jkt.v24i2.10107>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance in: virulence mechanisms of bacterial pathogens. *Microbiol Spectr*, 4(2), 481-511. <https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch17>
- Muttaqin, F. Z., Yuliantini, A., Fitriwati, A., & Asnawi, A. (2016). Penetapan kadar senyawa dan diazepam dalam sediaan kombinasi obat menggunakan metode KLT video densitometri. *Pharmacy*, 13(2), 127-136.  
<http://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/PHARMACY/article/view/1249>

- Nababan, H., Simanjuntak, H. A., & Gurning, K. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba tumbuhan balsem (*Polygala paniculata* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologica Samudra* 2(1), 60-65. <https://doi.org/10.33059/jbs.v2i1.2315>
- Nopiyanti, H. T., Agustriani, F., Isnaini, & Melki. (2016). Skrining *Nypa fruticans* sebagai antibakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Maspuri Journal*, 8(2), 83-90. <https://doi.org/10.36706/MASPARI.v8i2.3484>
- Normaliska, R., Sudarwanto, M. B., & Latif, H. (2019). Pola resistensi antibiotik pada *Escherichia coli* penghasil ESBL dari sampel lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 7(2), 42-48. <https://doi.org/10.29244/avi.7.2.42-48>
- Nugraha, Y. R., Erlinawati, N. A., & Dewi, E. S. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bonggol pisang kapok (*Musa paradisiaca* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi agar. *Jurnal Medika Farmaka*, 1(1), 40-53. <https://doi.org/10.33482/jmedfarm.v1i1.4>
- Nurhamidin, S. J., Wewengkang, D. S., & South, E. J. (2022). Uji aktivitas ekstrak dan fraksi organisme laut spons *Aaptos aaptos* terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. *Pharmacon*, 11(1), 1285-1291. <https://doi.org/10.36799/pha.11.2022.39139>
- Nuryadi., Astuti, T. D., Utami, E. S., & Budiantara, M. (2017). *Dasar-Dasar Statistik Penelitian*. Si Buku Media.
- Pasodung, A. P., Losung, F. Angkouw, E. D., Lintang, R., Mantiri, D. M. H., & Sumilat, D. A. (2018). Uji aktivitas antibakteri spons *Plakortis* sp. yang dikoleksi dari Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1), 44-51. <http://doi.org/10.35800/jplt.6.1.2018.20192>
- Pejin, B., & Karaman, M. (2017). Antitumor natural products of marine derived fungi boris. In Merillon J. M., & Ramawat, K. (Eds), *Fungal Metabolism* (pp 1-28).
- Prasetio, M., & Berliana, M. I.(2016). Article review: Gen mecA sebagai faktor munculnya *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Farmaka*, 14(3), 53-61. <https://doi.org/10.24198/jf.v14i3.10715.g5053>
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418-429. <https://doi.org/10.33541/pro-life.v4i3.479>
- Purwanto & Irianto, I. D. K. (2022). *Senyawa Alam Sebagai Antibakteri dan Mekanisme Aksinya*. Gajah Mada University Press.



- Putra, A. R. S., Effendi, M. H., Koesdarto, S., Suwarno, Tyasningsih, W., & Estoepongastie, A. T. S. (2019). Identifikasi bakteri *Escherichia coli* penghasil extended spectrum  $\beta$ -lactamase dari swab rectal sapi perah menggunakan metode vitek-2 di kud tani wilis sendang kabupaten tulungagung. *Journal of Basic Medicine Veterinary*, 8(2), 108-114. <https://doi.org/10.20473/v8i2.20414>
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli: Patogenesis, Analisis dan Kajian Risiko*. IPB Press.
- Rahmadina. (2021). *Taksonomi Hewan Invertebrata Berbasis Riset*. Deepublish.
- Rendowaty, A., Djamaan, A., & Handayani, D. (2017). Waktu kultivasi optimal dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat jamur simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(2), 49-54. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.4.1.147>
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *Microbiology*, 4(3), 482-501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Rhandour, Z., Tarbaoui, M., Oumam, M., Elamraoui, B., Bennamara, A., & Abourriche, A. (2016). Extraction and recovery of bioactive metabolites from marine sponge "*Ircinia spinulosa*". *World Journal of Innovative Research*, 1(2), 9-13. <https://www.neliti.com/id/publications/262558/extraction-and-recovery-of-bioactive-metabolites-from-marine-spongeand8220ircini>
- Rifai, A., Ulsadriatny, I., Maslukah, L., Indrayanti, E., Sedjati, S., & Trianto, A. (2013). Skrining beberapa jenis spons sebagai upaya pencarian bahan bioaktif antijamur *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. *Buletin Oseanografi Marina*, 2(4), 25-31. <https://doi.org/10.14710/buloma.v2i4.11169>
- Rini, C. S., & Rochmah, J. (2020). *Bakteriologi Dasar*. Umsida press.
- Risna., Fauziah, R., Djide, N., & Subehan. (2022). Isolasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antibakteri metabolit bakteri yang berasosiasi spons laut (*Agelas oroides*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 26(3), 96-100. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i3.18632>
- Robertus, T. (2024). Mekanisme resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik. *Jurnal Penelitian dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, 9(1), 214-221. <https://doi.org/10.25105/pdk.v9i1.18185>
- Roik, A., Reverter, M., & Pogoreutz, C. (2022). A roadmap to understanding diversity and function of coral reef-associated fungi. *Federation of European Microbiological Societies Microbial Reviews*, 46(6), 1-26. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac028>

- Rukmini, Siahaan. S., & Sari. I. D. (2019). Analisis implementasi kebijakan program pengendalian resistensi antimikroba (PPRA). *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 22(2), 106-116. <https://doi.org/10.22435/hsr.v22i2.1038>
- Rumagit, H. M., Runtuwene, M. R. J., & Sucidewi, S. (2015). Uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbatcea*. *Pharmacon*, 4(3), 183-192. <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.8858>
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan L. steud*) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrihidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25-34. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>
- Santoso, J., & Riyanta, A. B. (2020). Pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut pengeksrak terhadap stabilitas sifat fisik dan aktivitas antibakteri pada sediaan *foot sanitizer spray* kombinasi ekstrak biji kopi dan rimpang jahe. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 264-272. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v17i2.6034>
- Sapara, T. U., Waworuntu, O., & Juliatri. (2016). Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon*, 5(4), 10-17. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.13968>
- Sari, Ni Putu, D. P., Cahyo, B. D., Sugijanto, N. E. Nasution., & Suciati. (2021). Aktivitas antibakteri dari jamur endofit *Penicillium oxalicum* hasil endofit dari spons *Homaxinella tanitai*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 10-15. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.10-15>
- Sari, N. H. Y., Zakaria, A., & Dewi, C. (2023). Monitoring habitat terumbu karang di pulau pahawang kabupaten pesawaran. *Journal of Geodesy and Geomatics*, 3(1), 13-21. <https://doi.org/10.23960/datum.v3i1.3574>
- Shen, W., Xue, R., Liu, Y., Sun, S., Chen, X., Sun, D., Ouyang, H., Li, Y., Xu, J., Dong, Xiaoying., Ji, F., & Xu, W. (2024). Principle investigation and method standardization of inhibition zone assay based on antimicrobial peptides extracted from black soldier fly larvae. *Biotechnology*, 13(31), 1-14. <https://doi.org/10.3390/biotech13030031>
- Sholihah, M., Ahmad, U., Budiastra, I. W. (2017). Application of ultrasonic wave to increase extraction yield and effectiveness of antioxidant from mangosteen rind. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 5(2), 1-11. <https://doi.org/10.19029/jtep.05.2.161-168>
- Sihombing, F., Bara, R. A., & Fitje, L. (2017). Skrining aktivitas antibiotik jamur simbiosis pada spons di perairan Malalayang. *Journal Pesisir Dan Laut Tropis*, 1(1), 1-8. <https://doi.org/10.35800/jplt.5.1.2017.14934>
- Soedarto. (2015). *Mikrobiologi Kedokteran*. Sagung Seto..

- Suciari, L. K., Mastra, N., & HS, C. D. W. (2017). Perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi rebusan daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara *in vitro*. *Meditory*, 5(2), 92-100. <https://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id>
- Sudjito, S. Y. (2018). *Smart Book Biologi*. Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Sukarya, I. B. J., Pratiwi, I. D. P. K., Hapsari, A. N. M., & Puspawati, N. N. (2021). Ketahanan isolat bakteri asam laktat indiginus kombucha dan dadih terhadap antibiotik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10(4), 734-745. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10i04.p18>
- Susanti, O., Putra, P. M., & Putri, A. (2023). Kajian antibakteri dari fungi endosimbion mangrove *Avicennia sp.* Perairan Lampung terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Marshela (Marine and Fisheries Tropical Applied Journal)*, 1(2), 47-54. <https://doi.org/10.25181/mashela.v1i2.3177>
- Susilowati, A. R. A. B. (2014). Pengaruh getah tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas L*) terhadap daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* (Skripsi Tidak Terpublikasi). Universitas Hasanuddin.
- Swantara, I. M. D., Rita, W. S., & Hernindya, A. (2016). Identifikasi isolat anti-kanker spons *Hyrtios erecta*. *Indonesian Journal of Cancer*, 10(4), 123-129. <https://doi.org/10.33371/ijoc.v10i4.456>
- Utami, A. R. (2013). Resistensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* hasil isolasi dari sayuran terhadap antibiotik (tetrasiklin, amoksisilin, sefoksitin) dan iradiasi gamma Co-60 (No Publikasi 57405) [Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta]. Repository UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer.
- Wahyuni, D. T., & Widjanarko, S. B. (2015). Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak kratenoid labu kuning dengan metode gelombang untrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 390-401. <https://web.archive.org/web/2019011922611id/http://jpa/ub.ac.id:80/index.php/jpa/article/download/155/164>
- Warbung, Y. Y., Wowor, V. N. S., & Posangi, J. (2013). Daya hambat ekstrak spons laut *Callispongia sp.* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Gigi*, 1(2), 1-12. <https://doi.org/10.35790/eg.1.2.2013.3151>
- Weldy, S., Armita, A., Qori, F., & Sahna, F. (2022). Uji efektivitas antibakteri ekstrak kayu bajakah (*Spatholobus littoralis hassk*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *JAMBURA Journal*, 4(3), 668-676. <https://doi.org/10.35971/jjhsr.v4i3.12739>

- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak rambai laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83. <https://jurnal.stiksam.ac.id/index.php/jim/article/view/148>
- Wulff, J. (2012). Chapter four - Ecological interactions and the distribution, abundance, and diversity of sponge. In M. A. Becerro, M. J. Uriz, M. Maldonado, & X. Turon (Eds.), *Advances in Marine Biology* (pp. 273-344). Academic Press.
- Yanti, H., Palupi, R. D., & Rahmadani. (2020). Keanekaragaman dan kepadatan spons di perairan lalowaru sulawesi tenggara. *Jurnal Sapa Laut*, 5(1), 61-67. <https://doi.org/10.33772/jsl.v5i1.10954>
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi senyawa flavonoid dari daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan metode pereaksi geser. *Al kimiya*, 2(1), 9-17. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.346>
- Zweifach, A. (2024). Samples in many cell-base experiments are matched/paired but taking this into account does not always increase power of statistical tests for differences in means. *Molecular Biology Of The Cell*, 35(1), 1-8. <https://doi.org/10.1091/mbc.E23-05-0159>