

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI
TANAMAN ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA IN VITRO**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagai persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Diajukan Oleh :

**Tasya Marelyya Anindita Putri Pancawati
33101800082**

Kepada

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI
TANAMAN ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI
***Escherichia coli* SECARA IN VITRO**

Dipersiapkan dan Disusun oleh
Tasya Marelyya Anindita Putri Pancawati
33101800082

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal, 21 Februari 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Apt. Rina Wijavanti, M.Sc

Anggota Tim Penguji I



Winda Susmavanti, M.Sc

Pembimbing II



Apt. Fadzil Latifah, M.Farm

Anggota Tim Penguji II



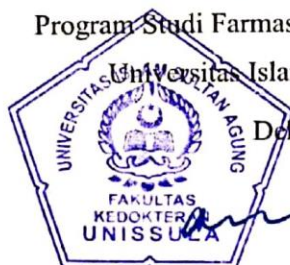
Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc

Semarang, 21 Februari 2023

Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S. H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tasya Marelyya Anindita Putri Pancawati

NIM : 33101800082

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI
TANAMAN ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA IN VITRO ”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 06 Maret 2023

Yang Menyatakan



Tasya Marelyya Anindita Putri Pancawati

SURAT PERNYATAAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tasya Marellya Anindita Putri Pancawati

NIM : 33101800082

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

No HP/Email : 085741632091/ tasyamarellya10@gmail.com

Dengan ini menyatakan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul :

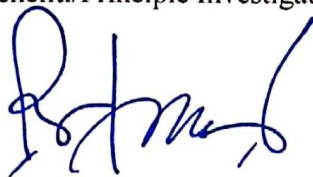
**“ UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI
TANAMAN ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA IN VITRO ”**

Dan menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non Eklusif untuk disimpan, dialih mediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh sungguh. Apabila di kemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karya tulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang tumbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Mengetahui,

Dosen Peneliti/Principle Investigator



Apt. Rina Wijayanti, M.Sc

NIDN : 0618018201

Semarang, 06 Maret 2023

Yang Menyatakan



Tasya Marellya Anindita Putri P.

NIM : 33101800082

PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI TANAMAN ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* SECARA IN VITRO”** untuk memenuhi syarat menempuh program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Dengan terselesainya skripsi ini, terbuka kesempatan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada mereka yang telah membantu tersusunnya skripsi ini. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang tulus kepada :

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Apt. Fadzil Latifah, M.Farm selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan

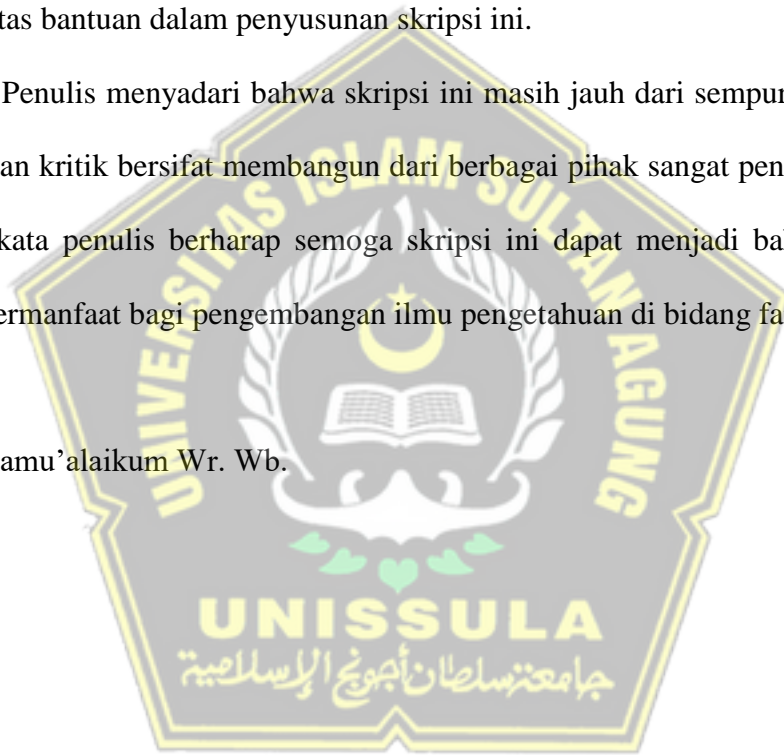
bimbingan dan pengarahan dengan sabar dan penuh pengertian pada penulis dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

4. Ibu Windi Susmayanti, M.Sc selaku penguji I dan Ibu Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc selaku penguji II yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis untuk perbaikan skripsi ini.
5. LPPM Unissula yang telah membiayai dan mendanai penelitian ini melalui skema penelitian internal tahun 2022.
6. Analis Laboratorium Farmasi FK UNISSULA (mbak Nisrina Nur Afifah, A.Md dan mbak Tria Vera) serta analis Laboratorium mikrobiologi FK UNISSULA (Ibu Yufrita) yang sudah memberi banyak bantuan untuk penelitian ini.
7. Bapak Sadi (Alm) dan Ibu Suwarni, Mama Ris Haryanti dan Papa Sunarto tercinta, adik Sakti Janua, dan keluarga besar. Terimakasih atas doa, semangat, kasih sayang, pengorbanan, dan dukungan baik moril maupun material menyertai penulis.
8. Kekasih tercinta Arifiansyah Kusnanda Sukoco terimakasih atas doa, semangat, kasih sayang, pengorbanan dan sabar mendengar keluh kesah dalam mendampingi. Serta selalu memberi dukungan baik moril maupun material menyertai penulis.
9. Tim penelitian FungiLons (Aulia Rahmadina, Desi Ambarwati, Nadya Rizky) berjuang bersama, bertukar pikiran, saling mendoakan, memberi semangat dalam terselesaikannya skripsi ini.

10. Sahabat terdekat (Novita Sari, Salsabila Nur, Fita Nadia, Nadia Endar, Retno Sulisty) yang selalu memberi dukungan, semangat dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
11. Keluarga besar Formicidae 2018 yang menemani berjuang dari awal sampai akhir hingga dapat menempuh skripsi dan terselesaikannya skripsi ini.
12. Berbagai pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terimakasih atas bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena itu saran dan kritik bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.



Semarang, 06 Maret 2023

Yang Menyatakan

Tasya Marelyya Anindita Putri Pancawati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iii
SURAT PERNYATAAN PUBLIKASI	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	7
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	7
2.1.4 Khasiat Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	8
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
2.2.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	12
2.2.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	12
2.2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	13

2.3	Komatografi Lapis Tipis (KLT).....	16
2.4	Uji Aktivitas Antibakteri.....	17
2.5	Hubungan Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i> dengan Aktivitas Bakteri <i>Escherichia coli</i>	20
2.6	Kerangka Teori.....	23
2.7	Kerangka Konsep.....	23
2.8	Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....		25
3.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	25
3.2	Variabel Dan Definisi Operasional.....	25
3.2.1	Variabel.....	25
3.2.2	Definisi Operasional.....	25
3.3	Populasi Dan Sampel Penelitian.....	27
3.3.1	Populasi.....	27
3.3.2	Sampel.....	27
3.4	Instrumen Dan Bahan Penelitian.....	27
3.4.1	Instrumen penelitian.....	27
3.4.2	Bahan penelitian.....	28
3.5	Prosedur Penelitian.....	28
3.5.1	Determinasi Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	28
3.5.2	Pengambilan Sampel.....	28
3.5.3	Sterilisasi Alat.....	29
3.5.4	Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	29
3.5.5	Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	30
3.6	Tempat dan Waktu Penelitian.....	35
3.6.1	Tempat.....	35
3.6.2	Waktu.....	35
3.7	Analisis Data.....	36
3.8	Alur Penelitian.....	37
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Hasil Penelitian.....	38

4.1.1	Determinasi Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	38
4.1.2	Isolasi Fungi Endofit	39
4.1.3	Analisis KLT	40
4.1.4	Identifikasi Bakteri	42
4.1.5	Pengujian Aktivitas Antibakteri	42
4.1.6	Analisis Data	43
4.2	Pembahasan	47
4.2.1	Determinasi	47
4.2.2	Isolasi	47
4.2.3	Analisis KLT	48
4.2.4	Identifikasi Bakteri	51
4.2.5	Pengujian Aktivitas Antibakteri	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		59
5.1	Kesimpulan	59
5.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA		60
LAMPIRAN		66



DAFTAR SINGKATAN

UV	= Ultraviolet
cm	= Centi meter
g	= Gram
mm	= Mili meter
mg	= Mili gram
mL	= Mili liter
μm	= Mikro meter
μL	= Mikro liter
BHI	= <i>Brain Heart Infusion</i>
MHA	= <i>Mueller Hinton Agar</i>
DMSO	= Dimetilsulfoksida
C	= Celcius
CFU	= Colony Forming Unit
pH	= Potential Hydrogen
NaCl	= Natrium Klorida



DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Waktu Penelitian	35
Tabel 4. 1 Hasil Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	40
Tabel 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit	41
Tabel 4. 3 Hasil uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit tanaman alga laut <i>Dichotomaria marginata</i> terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	43
Tabel 4. 4 Hasil analisis dari uji normalitas <i>Shapiro Wilk</i>	44
Tabel 4. 5 Hasil uji homogenitas <i>Levene's test</i>	44
Tabel 4. 6 Hasil Uji non-parametrik <i>Kruskal Wallis</i>	45
Tabel 4. 7 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	6
Gambar 2. 2 <i>Escherichia coli</i>	11
Gambar 2. 3 Kerangka Teori.....	23
Gambar 2. 4 Kerangka Konsep.....	23
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	37
Gambar 4. 1 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	39
Gambar 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit (A) spekto UV 254 nm dan (B) spekto UV 366 nm.....	41
Gambar 4. 3 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penimbangan Sampel	66
Lampiran 2. Ethical Clearance	68
Lampiran 3. Determinasi Tanaman	69
Lampiran 4. Hasil Isolat	70
Lampiran 5. Surat Keterangan Hasil Uji Antibakteri	71
Lampiran 6. Hasil Uji Antibakteri	74
Lampiran 7. Hasil Analisis Data	77
Lampiran 8. Dokumentasi	91



INTISARI

Bakteri *E. Coli* dapat menyebabkan diare. Antibiotik dapat digunakan untuk pengobatan diare, namun pemberian antibiotik dalam dosis tidak tepat dan jangka waktu yang panjang mengakibatkan resistensi antibiotik. Upaya lain dengan pengobatan alternatif alami memanfaatkan fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid, dan steroid sebagai antibakteri. Tujuan peneliti untuk mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *E. Coli*.

Penelitian eksperimental ini dengan rancangan *post test only control group design*, menggunakan metode sumuran dan media MHA sebagai uji antibakteri dengan 3 sampel konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, Ciprofloxacin (kontrol (+)), serta DMSO 1% (kontrol (-)) terhadap bakteri *E.coli*.

Hasil uji antibakteri 3 sampel isolat fungi endofit yang berpotensi sebagai antibakteri dengan rerata diameter zona hambat pada sampel 1 konsentrasi 60%, 80% dan 100% ($7,06 \pm 0,51$ mm; $7,56 \pm 0,05$ mm; $9,00 \pm 0,00$), sampel 2 konsentrasi 40%, 60%, dan 80% ($7,00 \pm 0,00$ mm; $7,16 \pm 0,05$ mm; $7,80 \pm 0,01$ mm), sampel 3 konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% ($7,00 \pm 0,00$ mm; $7,03 \pm 0,05$ mm; $7,60 \pm 0,00$ mm; $8,53 \pm 0,05$ mm). Analisis data dengan uji non paramatik menggunakan uji *Kruskall Wallis* selanjutnya uji *Mann Whitney*.

Kesimpulan penelitian ini adalah pada sampel 1, 2, dan 3 isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki nilai $p < 0,05$ terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol negatif yang artinya sampel memiliki aktivitas dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, dan terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol positif sehingga kemampuan sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* belum sekuat kontrol positif.

Kata kunci : antibakteri, *Dichotomaria marginata*, *E. coli*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare ialah penyakit menular yang menyebabkan tingkat kesakitan dan kematian di beberapa daerah yang menyerang semua golongan usia. Secara global di setiap tahun terhitung 9% penderita diare mengalami peningkatan, sebesar 1,8 juta penderita meninggal setiap tahun dan > 80% di antaranya balita usia < 5 tahun (Demissie *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian Munthari (2021) tertulis menurut data Dinas Kesehatan Kota Semarang pada tahun 2016-2018 mengalami kenaikan kasus diare, sebesar 32.100 kasus pada tahun 2016, 38.776 kasus pada tahun 2017, dan terjadinya kenaikan yang sangat drastis pada tahun 2018 yaitu 50.021 kasus kejadian diare.

Diare adalah penyakit akibat proses infeksi yang menjadi permasalahan dalam bidang kesehatan saat ini, ditandai kondisi seperti Buang Air Besar atau dikenal sebagai BAB yang encer umumnya berlangsung lebih dari tiga kali pada satu hari. Faktor penyebab diare terjadi kontaminasi makanan, cemaran air, MCK kurang memadai, dan higiene sanitasi (Sari *et al.*, 2019). Namun faktor yang paling sering terjadi dikarenakan infeksi bakteri daripada virus di berbagai negara berkembang, bakteri patogen paling sering yang menyebabkan diare ialah *Escherichia coli* (Gitaswari & Budayanti, 2019). Bakteri *E.coli* adalah bakteri dengan jenis Gram negatif penyebab diare terbanyak kedua setelah rotavirus,

sebagai flora normal terdapat di saluran pencernaan manusia, adapun *E.coli* yang memiliki sifat patogen enterik dapat menimbulkan diare (Halim *et al.*, 2017).

Terapi pengobatan pada penyakit infeksi yang diakibatkan oleh *E.coli* mampu dilaksanakan dengan pemberian antibiotik, apabila pemberian antibiotik dalam dosis yang tidak tepat dan jangka waktu yang panjang dapat memicu adanya efek samping dan mengakibatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik (Utomo *et al.*, 2018). Upaya lain dalam pengobatan alternatif dengan memanfaatkan senyawa alami alga laut yang berpotensi sebagai antibakteri, namun dalam proses eksplorasi senyawa metabolit yang terkandung akan membutuhkan banyak sampel dari alga laut dan saat ini kurangnya budidaya alga laut yang membutuhkan waktu lebih lama untuk pertumbuhan alga laut berasal dari alam, sehingga perlu tindakan untuk tetap menjaga kelestarian tanaman alga laut salah satunya dengan isolasi fungi endofit. Dalam proses isolasi fungi endofit terjadi koevolusi transfer genetik dari inangnya yang membuat fungi endofit memproduksi senyawa metabolit mirip dengan inangnya. Hal tersebut menjadi keuntungan dapat dikembangkan sebagai alternatif obat herbal, dikarenakan dengan metode tersebut fungi endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif jumlah besar, mempunyai siklus hidup pendek, dan termasuk mikroorganisme mudah ditumbuhkan (Hasiani *et al.*, 2015).

Eksplorasi antibakteri fungi endofit dari tanaman alga laut merah *Dichotomaria marginata* asal Kabupaten Lombok Utara belum pernah dilakukan sebelumnya. Alga ini merupakan jenis alga yang lebih banyak mengandung aktivitas biologi daripada alga jenis yang lain. Berdasarkan pernyataan (Panden *et al.*, 2019) bahwa pada alga merah dari famili *Galaxauraceae* mempunyai senyawa-senyawa yang terkandung yaitu alkaloid, flavonoid, hogen, terpenoid, polisakarida, fenol, lemak tak jenuh, saponin, florotanin, triterpenoid, steroid, dan lektin. Namun hanya senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, terpenoid, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid, dan steroid yang berpotensi sebagai antibakteri. Antibakteri diberikan dengan tujuan untuk menghambat bakteri tumbuh dan berkembang (Wahyuni *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian (Yulianti & Baso Manguntungi, 2018) menyebutkan bahwa alga laut merah dari famili *Galaxauraceae* memiliki fungsi sebagai antibakteri terhadap bakteri gram negatif *salmonella thypi* pada konsentrasi 100%.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini untuk pengujian secara in vitro isolasi fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* yang mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid, dan steroid sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* penyebab diare. Lebih lanjut penelitian ini dapat sebagai penuntun dalam menemukan aktivitas lain dari senyawa metabolit yang terkandung pada fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* sebagai antibakteri pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi terkait aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat menjadi acuan bagi praktisi untuk meningkatkan potensi isolat fungi endofit

dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Gambar Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata* tersaji pada gambar

Gambar 2.1 berikut :



Gambar 2. 1 Alga Laut *Dichotomaria marginata*

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Biliphyta</i>
Divisi	: <i>Rhodophyta</i>
Subdivisi	: <i>Eurhodophytina</i>
Kelas	: <i>Florideophyceae</i>
Subkelas	: <i>Nemaliophycidae</i>
Ordo	: <i>Nemaliales</i>

Famili : *Galaxauraceae*
Genus : *Dichotomaria*
Spesies : *Dichotomaria marginata* (Kasanah *et al.*, 2021)

2.1.2 Morfologi Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* yang merupakan jenis makro alga dari famili *Galaxauraceae*, biasa ditemukan di terumbu karang, pantai berbatu di daerah intertidal pada kedalaman 1-16 m. Ciri dari *Dichotomaria marginata* berwarna coklat kemerahan atau ungu hingga merah tua dengan tinggi sekitar 10 cm dan lebar 13 cm. Memiliki talus yang pipih, berstruktur keras namun masih fleksibel (cartilaginous), halus, datar, bercabang secara dikotomis dengan margin yang menebal dan ada garis samar melintang di sekitar dekat ujung talus, jika dikeringkan pada talus akan terlihat berbintik-bintik. *Dichotomaria marginata* mempunyai cabang talus (blade) secara dikotomis dengan lebar tiap cabang (blade) 1-3 mm, pada sudut 72-89° seperti setengah lingkaran (Kasanah *et al.*, 2021) (Schneider *et al.*, 2016).

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* termasuk divisi alga merah (*Rhodophyta*) jenis makro alga dari famili *Galaxauraceae*. Alga ini merupakan jenis alga yang lebih banyak mengandung aktivitas biologi daripada alga jenis yang lain. Berdasarkan pernyataan (Panden *et al.*, 2019) bahwa pada alga merah memiliki kandungan

senyawa metabolit yaitu alkaloid, flavonoid, hogen, terpenoid, polisakarida, fenol, lemak tak jenuh, saponin, triterpenoid, steroid, dan lektin. Pada alga merah dapat melindungi diri dengan cara menghasilkan senyawa metabolit yang aktif dari berbagai penyakit dan predator lain.

2.1.4 Khasiat Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Berdasarkan pernyataan (Pandén *et al.*, 2019) terkait senyawa metabolit yang terkandung pada alga merah (*Rhodophyta*) jenis makroalga dari famili *Galaxauraceae*, hanya ada beberapa kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu

a. Alkaloid

Senyawa alkaloid sebagai antibiotik spektrum luas secara langsung akan mengganggu DNA bakteri dengan cara melisiskan dinding pelapis bakteri yang tidak berbentuk utuh karena senyawa alkaloid mengganggu peptidoglikan yang dimiliki oleh lapisan bakteri hingga sel tersebut mati. Serta senyawa alkaloid dapat memperlambat dalam proses pembentukan sintesis protein yang menyebabkan gangguan metabolisme bakteri (Angraini *et al.*, 2019) (Sudarmi *et al.*, 2017).

b. Flavonoid

Pada flavonoid bersifat polar yang mampu menembus peptidoglikan sehingga dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri dengan cara pelepasan energi transduksi terhadap membran sitoplasma juga dapat mengganggu DNA bakteri. Struktur dari flavonoid memiliki gugus hidroksil (OH) yang memiliki bersifat toksik, serta mengkoagulasi protein pada bakteri yang menyebabkan bakteri tidak berkembang (Egra *et al.*, 2019).

c. Polisakarida

Sebagai antibakteri polisakarida memiliki mekanisme kerja mampu membuat kerusakan pada protein membran dan kerusakan struktural sehingga komponen sel terlepas seperti protein dan elektrolit, serta terjadi perubahan permeabilitas membran (Wang *et al.*, 2021).

d. Fenol

Senyawa fenol bersifat bakterisidal yang dapat menyerang bakteri gram negative dan positif. Fenol mempunyai hidroksil (OH) yang dapat mengganggu permeabilitas membran sitoplasma agar meningkat sehingga mengakibatkan komponen intraseluler menjadi bocor (Sudarmi *et al.*, 2017). Fenol juga dapat memutuskan ikatan

peptidoglikan yang menyebabkan dinding bakteri rusak (Egra *et al.*, 2019).

e. Saponin

Aktivitas antibakteri pada saponin memiliki 2 gugus yaitu gugus hidrofilik yang dapat larut dengan zat bersifat polar dan gugus lipofilik yang dapat larut dengan zat bersifat nonpolar, mekanisme kerja mirip deterjen dengan flavonoid yaitu dengan mendestruksi dinding sel bakteri sehingga terjadi kebocoran sel dikarenakan senyawa saponin berdifusi melewati membran sitoplasma membuat terganggunya kestabilan membran sehingga isi sel akan keluar sehingga terjadi kematian sel (Sudarmi *et al.*, 2017).

f. Triterpenoid/terpenoid

Aktivitas antibakteri pada triterpenoid dengan cara berinteraksi dengan protein transmembran (porin) sehingga mengakibatkan kerusakan protein transmembran karena terbentuk ikatan polimer kuat dan terjadi penurunan kemampuan partikel dalam menembus dinding sel bakteri yang membuat sel bakteri mengalami penurunan nutrisi, sehingga akan menghambat untuk bertumbuh atau terjadi kematian (Anggraini *et al.*, 2019).

g. Steroid

Steroid memiliki mekanisme kerja dalam sensitivitas komponen steroid dan merusak membran lipid yang mengakibatkan liposom terjadi kebocoran. Diketahui steroid memiliki sifat permeabel untuk senyawa lipofilik mampu berinteraksi dengan membran fosfolipid sel sehingga dapat mengakibatkan perubahan membran sel yang memicu terjadinya sel mengalami lisis serta penurunan integritas membran (Anggraini *et al.*, 2019).

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Gambar bakteri *Escherichia coli* tersaji pada Gambar 2.2 berikut :



Gambar 2. 2 *Escherichia coli*

(Rahayu *et al.*, 2018)

2.2.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gammaproteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016).

2.2.2 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli ialah salah satu jenis bakteria gram negatif, yang memiliki bentuk coccus dengan ukuran kisaran 1.0 hingga 1.5 μm x 2.0 hingga 6.0 μm , memiliki kemampuan tidak motil atau modil dengan menggunakan flagela yang dimiliki, dan mampu berkembang dengan atau tanpa oksigen yang dapat disebut bersifat fakultatif anaerobik (Rahayu *et al.*, 2018). Dinding luar pada bakteria *Escherichia coli* memiliki sifat permeabilitas tinggi dan mempunyai 3 lapisan dinding sel yang menyimpan polimer-polimer yakni lapisan terluar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida serta lapisan terdalam peptidoglikan (Nurhayati *et al.*, 2020). Bakteria *Escherichia coli* mempunyai rentang waktu generasi kisaran 30-87 menit menyesuaikan pada suhu, mampu berkembang dengan baik pada suhu

optimum 37°C serta generasi tersingkat selama 30 menit (Rahayu *et al.*, 2018).

Bakteri berwarna merah dengan pengecatan gram ini merupakan flora normal yang umumnya terdapat di system gastrointestinal tepatnya dalam colon. Berbagai *E. coli* bersifat patogen enterik mampu menimbulkan keracunan yang mengakibatkan diare karena dapat menghasilkan verotoksin yang dapat menghambat produksi protein. Kemungkinan terjadinya paparan bakteri *Escherichia coli* diakibatkan oleh memakan makanan semacam daging yang belum dimasak, air, sayur, buah yang telah terkontaminasi dan susu yang belum dipasteurisasi atau akibat kontak langsung dengan hewan infeksi (Sutiknowati, 2016).

2.2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

a. Tekanan Osmotik

Tekanan osmotik adalah suatu peristiwa berpindahnya larutan ke konsentrasi besar dari konsentrasi yang lebih kecil melalui membran semipermeabel. Menurut Arivo (2017), tekanan osmotik memiliki pengaruh kepada proses tumbuhnya bakteri *E.coli* pada larutan NaCl konsentrasi 0% menghasilkan nilai penyerapan yang tinggi, sehingga menunjukkan pada konsentrasi tersebut bakteri *E.coli* dapat tumbuh banyak. Hal ini dikarenakan jika bakteri ditumbuhkan dalam larutan hipertonik pada NaCl berkonsentrasi jauh dibawah maupun diatas 1% akan mengalami

plasmolisis, yaitu keluarnya air dari sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan atau kematian bakteri. Efek dari tekanan osmotik berkaitan dengan molekul dan jumlah ion terlarut dalam larutan. Pada konsentrasi yang sesuai, terjadi peristiwa fisiologis bakteri yang berfungsi melangsungkan proses biokimia yang dikatalis oleh enzim dan mempertahankan kelangsungan hidup (Arivo *et al.*, 2017).

b. pH

Pada pH sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri karena pH yang optimal sangat dibutuhkan oleh bakteri. Jika pH pada lingkungan berubah hal tersebut dapat berdampak pada efektivitas enzim dalam pembentukan kompleks enzim substrat, pH yang rendah maupun pH tinggi akan mengakibatkan terjadinya mekanisme denaturasi sehingga berdampak terhadap aktivitas enzim yang menurun dan dapat terjadi penurunan jumlah pertumbuhan bakteri (Arivo, Debi; Annissatussholeha, 2017).

c. Temperatur

Menurut penelitian Arivo (2017), temperatur 37°C menghasilkan nilai absorbansi yang tinggi, sehingga menunjukkan pada konsentrasi tersebut terjadi pertumbuhan bakteri *E.coli* yang banyak. Temperatur adalah faktor beresiko terhadap stabilitas struktur molekul protein dan reaksi kimia yang mampu mengganggu pertumbuhan bakteri. Bakteri dapat beradaptasi untuk

mempertahankan kelangsungan hidup pada suhu 37°C, pada saat terjadi peningkatan temperatur maka akan diikuti dengan peningkatan reaksi kimia karena memicu energi kinetik reaktan meningkat. Kecepatan pertumbuhan dari bakteri, kecepatan sintesis dari enzim, serta kecepatan inaktivasi enzim juga berpengaruh pada suhu, jika temperatur terlalu tinggi dapat mengakibatkan denaturasi enzim (Arivo, Debi; Annissatussholeha, 2017).

d. Kelembaban

Kelembaban berasal dari air yang mengalami penguapan yang berada di udara, apabila kelembapan tinggi maka kandungan air yang menguap yang berada di udara akan tinggi juga. Peran kelembaban yang tinggi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri, karena dalam keadaan udara yang lembab bakteri mampu tumbuh dengan baik (Fithri *et al.*, 2016). Bakteri memiliki kelembaban optimum untuk bertumbuh yaitu 85%, dan saat lingkungan dengan RH kurang dari 84% pada bakteri *E.coli* akan terjadi penurunan elastisitas dinding sel dan daya tahan (Rudiyansyah *et al.*, 2015).

e. Nutrisi

Media dalam menumbuhkan bakteri perlu mengandung zat-zat nutrisi yang sangat penting untuk perkembangan bakteri yaitu nitrogen, karbon, sulfat, folat, potasium, kalsium, sodium magnesium, besi ataupun mangan (Sakinah *et al.*, 2019). Pada saat

nutrisi tersebut terpenuhi maka bakteri akan dapat tumbuh cepat, hal ini memberikan pengaruh positif dalam mekanisme pembelahan sel yang mampu berjalan dengan baik dan mampu menghasilkan ukuran koloni semakin luas (Anisah & Rahayu, 2015).

2.3 Komatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode KLT bertujuan untuk melakukan pemisahan komponen campuran senyawa berdasarkan perbedaan dari distribusi molekul komponen antar 2 fase yakni eulen (fase bergerak) serta adsorben (fase berhenti) yang tingkat kepolaran dari kedua fase tersebut juga berbeda. Metode dalam penelitian ini memakai silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam, yang sebelumnya dipanaskan dengan oven selama 30 menit pada suhu 105°C agar kering sehingga eluen dengan mudah terbawa (Putri & Raharjo, 2019). Dalam pemilihan fase gerak yang tepat memiliki sifat pelarut pengembang agar senyawa dapat bergerak pada suatu fase adsorben yang berkaitan dengan polaritas suatu pelarut. Kemampuan ini biasa disebut kekuatan elusi, dengan urutan kekuatan pelarut yaitu petroleum eter < hexan < carbon tetraklorida < toluene < benzena < methylene diklorida < < *clorofom* < *ethyl acetate* < aseton < etanol < metanol < air. Pada uji identifikasi senyawa pada metode KLT selanjutnya dapat dilakukan reaksi penampak noda ataupun deteksi memakai UV (254 ataupun 366 nm) untuk senyawa yang mampu menyerap warna. Metode KLT lebih mudah digunakan, tidak rumit, efisien, cepat, sampel uji yang dibutuhkan ukuran kecil, dan hasil yang simple (Atun, 2014).

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengukuran daya hambat pertumbuhan bakteri pada uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengidentifikasi suatu kemampuan senyawa metabolit yang diperkirakan mempunyai keunggulan aktivitas sebagai antibakteri, sehingga mampu memberikan pengobatan yang berkhasiat dan berguna. Macam-macam metode pada uji aktivitas antibakteri, yaitu :

1. Metode Dilusi

Metode delusi/ pengenceran untuk menentukan daya hambat minimum dan tingkat pembunuhan minimum zat antibakteri yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Cara ini dilakukan dengan cara mencampurkan bahan ke dalam media semai kemudian diinokulasikan dengan bakteri yang akan diuji kemudian diinkubasi. (Effendi *et al.*, 2014), metode dilusi ada 2 yaitu :

a. Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode pengenceran cair dapat digunakan untuk menilai MIC (Minimum Inhibitory Content) dan MBC (Minimum Bactericidal Concentration), dengan membuat pengenceran serial zat antibakteri dalam media cair kemudian menambahkan bakteri yang akan diuji. Dapat dikatakan MIC jika suatu larutan uji pada konsentrasi terkecil dapat terlihat jernih tanpa pertumbuhan bakteri uji atau dapat menghambat pertumbuhan bakteri, maka dilakukan pembiakan kembali pada media cair tanpa penambahan bakteri uji atau bahan antibakteri maka inkubasi selama 18-24

jam. Pada media cair yang terlihat bening setelah diinkubasi disebut MBC (Etikasari *et al.*, 2017).

b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

Metode pengenceran padat membutuhkan media padat (padat) yang dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji pada media agar yang mengandung zat antibakteri. Metode ini, jika pengujian dilakukan untuk satu konsentrasi agen antibakteri, dapat digunakan untuk melakukan beberapa pengujian bakteri (Fitriana *et al.*, 2019).

2. Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode pengujian daya antibakteri yang ditentukan terhadap terdifusinya zat antibakteri ke dalam media padat, diamati daerah pertumbuhan bakteri uji yang telah diinokulasikan. Metode ini biasa digunakan untuk senyawa antibakteri yang larut dan tidak larut (Nurhayati *et al.*, 2020). Metode difusi ada 2 yaitu :

a. Metode Difusi Sumuran/Difusi Agar (*Well Diffusion*)

Cara yang dikerjakan pada metode ini dengan membentuk lubang tegak lurus pada media padat yang telah dilakukan inokulasi dengan bakteri uji. Letak dan jumlah lubang dapat disesuaikan, lalu lubang yang telah dibentuk diisi dengan sampel yang akan diuji. Sesudah diinkubasi, dapat diamati pertumbuhan bakteri yang berpengaruh terhadap terbentuknya daerah hambatan di sekitar lubang.

Kelebihan dan kekurangan dalam menggunakan metode difusi sumuran/difusi agar (*Well Diffusion*) yaitu :

- 1) Kelebihan : mudah dalam mengukur luas daerah hambatan yang terbentuk oleh aktivitas bakteri sampai ke bawah permukaan media agar tidak hanya di permukaan atas saja
- 2) Kekurangan : kemungkinan besar media agar pecah atau retak disekitar lubang sumuran yang dapat mengganggu peresapan senyawa ke dalam media dan akan mempengaruhi diameter zona bening pada saat uji sensitivitas (Nurhayati *et al.*, 2020).

b. Metode Cakram/Kertas Saring (*Kirby Bauer*)

Media penyerap bahan antibakteri pada metode ini yaitu kertas cakram yang dijenuhkan ke dalam bahan uji dan diletakkan di permukaan media agar yang sudah diinokulasi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Daerah bening di sekitar kertas cakram dapat diamati untuk mengetahui pertumbuhan bakteri, diameter daerah bening sesuai dengan jumlah bakteri uji yang ditambahkan dalam kertas cakram.

Kelebihan dan kekurangan dalam menggunakan metode cakram/kertas saring (*Kirby Bauer*) yaitu :

- 1) Kelebihan : penyiapan cakram dapat dilakukan pengujian lebih cepat

- 2) Kekurangan : semakin tinggi tumpukan kertas cakram maka semakin kecil diameter daerah hambat yang terbentuk, sehingga ukuran diameter daerah hambatan dapat dipengaruhi oleh tumpukan kertas yang menyusun cakram (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.5 Hubungan Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata* dengan Aktivitas Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan pernyataan (Pandén *et al.*, 2019) menyebutkan bahwa pada alga merah (*Rhodophyta*) jenis makro alga dari famili *Galaxauracea*, yaitu tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki kandungan senyawa metabolit yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid dan steroid. Berdasarkan penelitian (Yulianti & Baso Manguntungi, 2018) menyebutkan bahwa alga laut merah dari famili *Galaxauraceae* mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri gram negatif *salmonella thypi* pada konsentrasi 100%.

Pada senyawa alkaloid sebagai antibakteri mempunyai gugus aromatik yang dapat berinterkalasi dengan DNA, menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun gram positif, terjadinya lisis pada lapisan dinding sel bakteri yang tidak berbentuk utuh karena senyawa alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri hingga sel tersebut mati. Serta senyawa alkaloid dapat memperlambat dalam proses pembentukan sintesis protein yang menyebabkan gangguan metabolisme bakteri (Anggraini *et al.*,

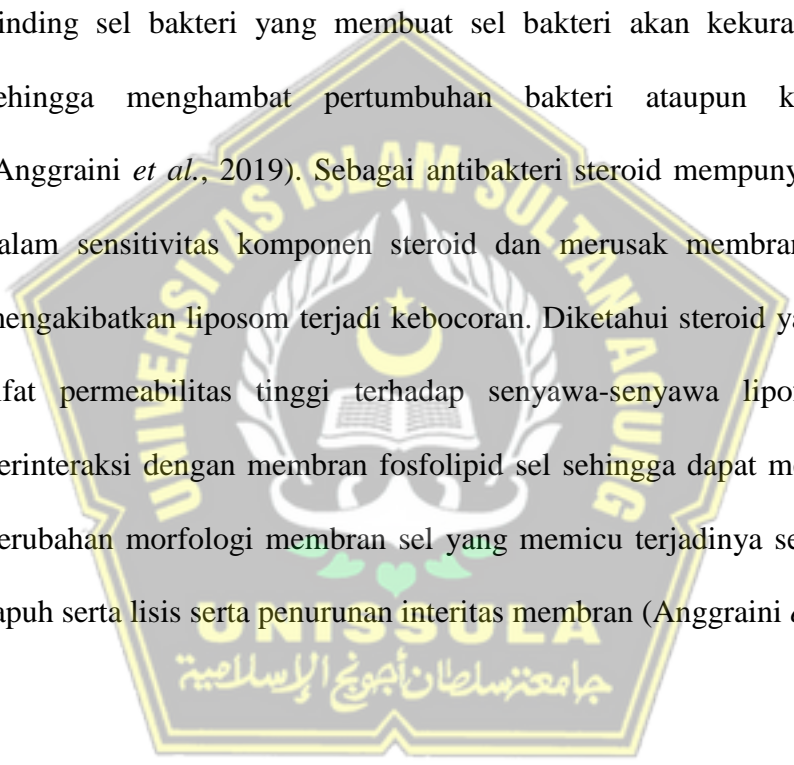
2019) (Sudarmi et al., 2017). Pada flavonoid bersifat polar yang mampu menembus peptidoglikan dan sebagai antibakteri terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, lisosom bakteri dan mikrosom bakteri. Akibat interaksi antara senyawa flavonoid dengan DNA bakteri mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma. Struktur dari flavonoid memiliki gugus hidroksil (OH) yang mengakibatkan transport nutrisi dan perubahan komponen organik yang memicu timbulnya efek toksik terhadap bakteri, serta mengkoagulasi protein pada bakteri yang menyebabkan bakteri tidak berkembang (Egra *et al.*, 2019).

Sebagai antibakteri polisakarida memiliki mekanisme kerja mampu membuat kerusakan pada protein membran dan kerusakan struktural sehingga komponen sel terlepas seperti protein dan elektrolit, serta terjadi perubahan permeabilitas membran (Wang *et al.*, 2021).

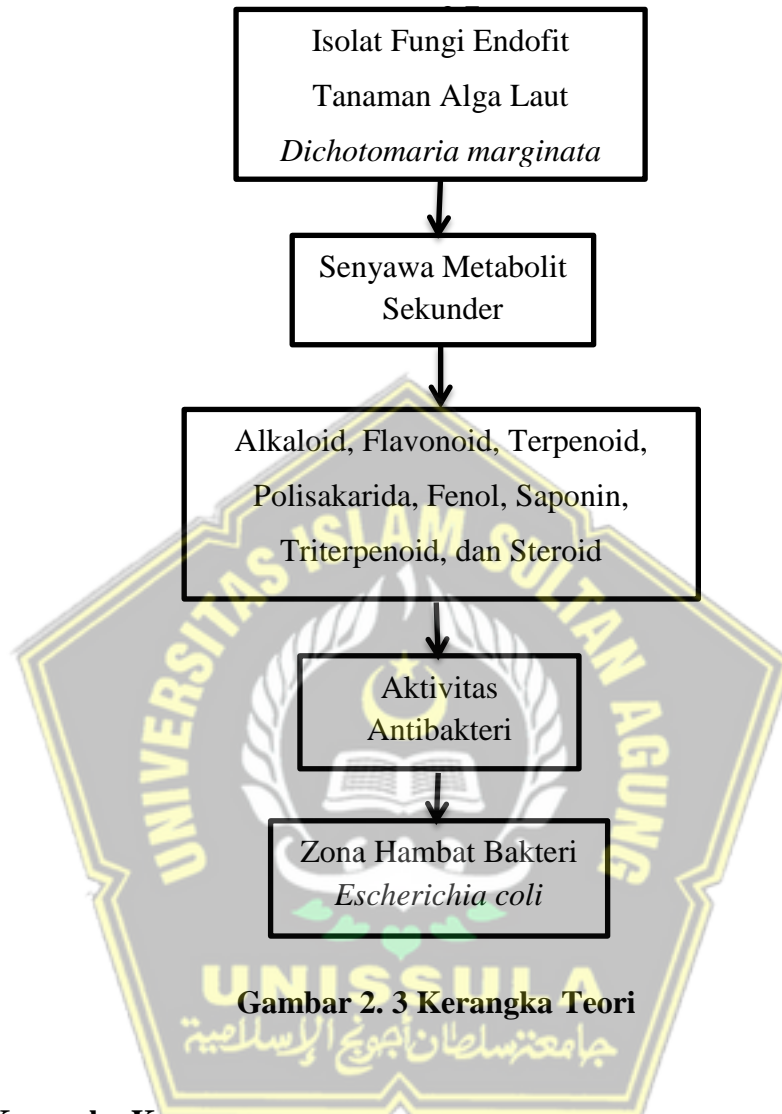
Pada senyawa fenol bersifat bakterisidal dan berspektrum luas dapat untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram jenis negatif ataupun gram positif, memiliki cara kerja permeabilitas membran sitoplasma mengalami peningkatan sehingga mengakibatkan komponen intracelluler menjadi bocor serta koagulasi sitoplasma yang menyebabkan sel lisis (Sudarmi *et al.*, 2017). Aktivitas antibakteri pada saponin memiliki mekanisme kerja mirip deterjen dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri serta kerusakan permeabilitas membran dan mengakibatkan kebocoran sel dikarenakan senyawa saponin berdifusi melewati membran sitoplasma

membuat terganggunya kestabilan membran dan mengalami kebocoran yang keluar dari sel sehingga terjadi kematian sel (Sudarmi *et al.*, 2017).

Pada triterpenoid mempunyai cara kerja sebagai antibakteri yang akan membuat reaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri mengakibatkan kerusakan protein transmembran karena terbentuk ikatan polimer yang kuat serta terjadi penurunan permeabilitas dinding sel bakteri yang membuat sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri ataupun kematian sel (Anggraini *et al.*, 2019). Sebagai antibakteri steroid mempunyai cara kerja dalam sensitivitas komponen steroid dan merusak membran lipid yang mengakibatkan liposom terjadi kebocoran. Diketahui steroid yang memiliki sifat permeabilitas tinggi terhadap senyawa-senyawa lipofilic mampu berinteraksi dengan membran fosfolipid sel sehingga dapat mengakibatkan perubahan morfologi membran sel yang memicu terjadinya sel mengalami rapuh serta lisis serta penurunan integritas membran (Anggraini *et al.*, 2019).

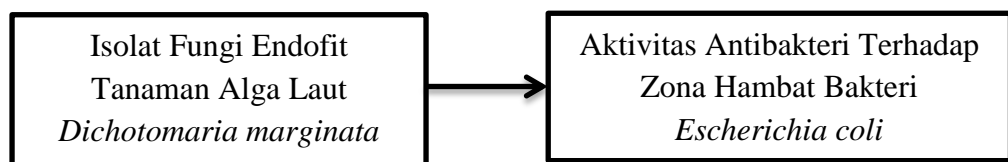


2.6 Kerangka Teori



Gambar 2. 3 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. 4 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) secara invitro.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan memakai rancangan *post test only control group design*.

3.2 Variabel Dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel Bebas

Dalam penelitian ini yang termasuk variabel bebas ialah isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*.

3.2.1.2 Variabel Terikat

Dalam penelitian ini yang termasuk variabel terikat ialah aktivitas antibakteri fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* adalah alga merah yang berasal dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kabupaten Lombok Utara. Isolat fungi endofit diperoleh melalui proses isolasi pada media *Potato Dextrosa Agar* (PDA), selanjutnya

didapatkan fungi endofit murni dengan proses pemurnian media *Malt Extract Agar* (MEA), dan tahap berikutnya pada media padat *Solid Rice Medium* (Media Beras Padar) dilakukan fermentasi (Kjer *et al.*, 2010).

3.2.2.2 Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Dari Alga Laut *Dichotomaria marginata* Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Uji aktivitas antibakteri merupakan sebuah pengukuran daya hambat pertumbuhan bakteri yang memiliki tujuan supaya dapat mengidentifikasi sebuah kemampuan yang dimiliki oleh senyawa senyawa metabolit yang diperkirakan mempunyai keunggulan aktivitas sebagai antibakteri, sehingga mampu memberikan pengobatan yang berkhasiat dan berguna. Metode *uji agar well diffusion assay* adalah satu dari berbagai yang dipakai sebagai metode uji aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam uji aktivitas antibakteri yaitu jika zona bening pada sekitar sumuran yang diukur menggunakan jangka sorong satuan (mm) dengan skala rasio sebagai skala yang digunakan.

3.3 Populasi Dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini menggunakan bakteri *E. coli* sebagai bakteri gram jenis negatif yang dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu 1 µg bakteri *E.coli* ditanam dalam tabung 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian hasil kepekatan bakteri disesuaikan dengan standar kekeruhan larutan *McFarland* 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

3.4 Instrumen Dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen penelitian

Instrumen yang dipakai ialah erlenmeyer (Iwaki, Pyrex), pengaduk, cawan petri (Pyrex), timbangan elektrik, beaker glass (Iwaki), gunting (Kenko), pipet ukur (Pyrex), pipet tetes, tissue (Nice), gelas chamber, pipa kapiler, kertas penjenuhan, mikropipet (Vitlab, Lambda), microtip (Axygen), aluminium foil (Total Wrap), kertas saring, kertas label, bunsen (Luca's), pingset, kaca preparat, *cover glass*, ose steril, corong, mikroskop, autoklaf, oven, spektrofotometri UV VIS, penggaris, pensil, *Laminar Air Flow* (LAF), *rotary evaporator*, spatel, *cork borer*, BSC (*Bio Safety Cabinet*), labu ukur, vial, *cotton swab*, tabung *dorham*, jangka sorong

3.4.2 Bahan penelitian

Bahan yang dibutuhkan yaitu tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*, aquades steril, *Mueller Hinton Agar* (MHA), bakteri *E. coli*, alkohol 70%, aquadest, metanol, silika gel GF₂₅₄, *Lactophenol Blue Cotton* (LPCB), NaCl, DMSO, Ciprofloxacin murni, metilen blue, media BHI (*Brain Heart Infusion*), media *Harlequin*, *crystal violet*, *lugol*, air fuchsin, emersi, larutan standar *Mc. Farland*

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Determinasi tanaman dilaksanakan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Muhammadiyah Mataram. Determinasi bertujuan untuk membuktikan kebenaran jenis tanaman yang digunakan, dengan melihat kunci determinasi ciri khas takson dari tanaman yang disusun sedemikian rupa menggunakan kunci determinasi lalu memilih satu sifat yang sesuai dengan ciri tumbuhan yang diinginkan, begitu seterusnya hingga didapatkan jawaban berupa identitas tanaman.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel tanaman sumber fungi endofit yang diisolasi dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* berasal dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara. Sampel diambil dari zona internidal merupakan daerah yang berada di sepanjang garis pantai dan

mengalami pasang surut air laut dengan kedalaman sekitar 0-60 m. Tanaman alga laut yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan proses sterilisasi tanaman dan proses isolasi (Dewi *et al.*, 2020) .

3.5.3 Sterilisasi Alat

Sterilisasi bertujuan agar alat yang digunakan bersih dan terhindar dari mikroorganisme yang terdapat pada alat. Alat yang berbahan gelas disterilkan dalam oven selama 2 jam dengan suhu 180°C. Sementara itu pingset dan alat ose disterilkan dengan pemijaran diatas api bunsen yang menyala. Alat yang berskala atau memiliki ukuran disterilkan pada autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Lusi, 2016).

3.5.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan supaya dapat identifikasi metabolit sekunder, tahapan pertama melakukan pembuatan eluen menggunakan kloroform:metanol dengan perbandingan 9:1 dalam 15 mL gelas chamber. Sebanyak 13,5 ml kloroform dan metanol 1,5 ml dimasukan ke dalam gelas chamber, kemudian dilakukan penjenuhan eluen dengan memasukkan kertas penjenuhan ke dalam gelas chamber. Eluen di dalam gelas chamber dinyatakan jenuh jika kertas penjenuhan sudah basah hingga bagian atas, setelah itu isolat fungi endofit ditotolkan secara bersamaan pada plat KLT (silika gel GF₂₅₄) yang telah diaktifkan dengan oven selama

10 menit pada suhu 100°C dengan ukuran 10 cm x 4 cm dan diberi batas bawah 0,5 cm dan batas atas 0,3 cm. Selanjutnya plat KLT dielusikan dengan eluen yang telah dijenuhkan di dalam gelas chamber tunggu terelusi hingga batas atas, setelah eluen mencapai batas atas pada plat dikeluarkan dari chamber, kemudian dikeringkan dan noda diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Putri & Raharjo, 2019) (Hasiani *et al.*, 2015).

3.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan suspensi bakteri

1 µg bakteri *E.coli* ditanam dalam tabung 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) yang merupakan media cair untuk menumbuhkan semua jenis bakteri. Kemudian dilakukan inkubasi kurang lebih 24 jam dengan suhu 37°C, lalu dari suspensie bakteri diambil 1 ose dan dimasukkan pada tabung reaksi yang sudah terisi 2 ml NaCl, homogenkan sampai didapatkan kekeruhan yang setara dengan standart kekeruhan yang dimiliki oleh larutan *McFarland* (Lusi, 2016).

b. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilaksanakan secara makroskop serta mikroskop. Identifikasi makroskopis menggunakan cara melakukan pengamatan morfologi dari koloni yaitu yang memiliki warna warna koloni (biru), bentuk koloni (bulat) dengan cara sampel bakteri *E. Coli* yang sudah jadi ditanam dalam tabung

media BHI (*Brain Heart Infusion*) yang merupakan media cair untuk menumbuhkan semua jenis bakteri. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, setelah itu diambil 1 ose digoreskan secara zig zag pada media *E.coli* selektif yaitu *Harlequin*, inkubasi kembali selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram yang bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri, dengan cara 1 ose suspensi bakteri diambil lalu digoreskan pada kaca preparat kemudian fiksasi diatas bunsen bertujuan membunuh bakteri dan melekatkan bakteri dikaca. Ditetesi *crystal violet* dan ditunggu 1 menit, setelah itu di bilas dengan aquadest, ditetesi kembali dengan *lugol* sebagai penegas dan tunggu 1 menit, setelah itu di bilas dengan aquadest. Lalu dilunturkan dengan alkohol 96%, cuci kembali dengan aquadest. Selanjutnya ditetesi cat penentu yaitu safranin, ditunggu 2 menit dan bilas dengan aquadest, dikeringkan dan diberi 1 tetes minyak emersi kemudian diamati pada mikroskop perbesaran 1000x (khusus bakteri). Jika hasil yang didapatkan positif bakteri genus *Escherichia coli* diketahui dengan ciri-ciri adanya koloni berwarna merah batang (Indarjulianto *et al.*, 2021)(Tivani *et al.*, 2019)

c. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol yang negatif menggunakan pelarut DMSO 1% murni tanpa perlakuan. DMSO dipilih sebagai kontrol negatif karena merupakan senyawa organosulfon, dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar juga larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (Octaviani & Rahima, 2021)

d. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol yang positif diciptakan menggunakan Ciprofloxacin murni dengan potensi 5 µg/ml. Ciprofloxacin murni ditimbang 50 mg serta dilakukan pelarutan dengan 50 ml aquadest steril lalu dihomogen dan diambil 1 ml kemudian ditambahkan 10 ml aquadest steril. (Muslim *et al.*, 2020).

e. Pembuatan Konsentrasi Isolat Fungi Endofit

Sampel isolat fungi endofit dilakukan pengenceran dengan memakai rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

V_1 : Volume sebelum dilakukan pengenceran

M_1 : Konsentrasi sebelum dilakukan pengenceran

V_2 : Volume sesudah dilakukan pengenceran

M_2 : Konsentrasi sesudah dilakukan pengenceran

Dengan menggunakan rumus diatas, untuk mendapatkan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% serta 100% dilakukan

pengenceran konsentrasi isolat untuk 5 mL dengan cara sebagai berikut :

1. Konsentrasi 20% dengan mengambil 1 mL isolat ditambahkan 4 mL DMSO 1%.
2. Konsentrasi 40% dengan mengambil 2 mL isolat ditambahkan 3 mL DMSO 1%.
3. Konsentrasi 60% dengan mengambil 3 mL isolat ditambahkan 2 mL DMSO 1%.
4. Konsentrasi 80% dengan mengambil 4 mL isolat ditambahkan 1 mL DMSO 1% (Panden *et al.*, 2019).

f. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Media MHA diciptakan menggunakan menimbnag MHA sebesar 19 gr lalu dilakukan pelarutan menggunakan aquades sampai mencapai volume 500 ml di dalam labu erlenmeyr. Kemudian dipanaskan hingga larutan homogen, selanjutnya dilakukan proses sterilisasi media memakai autoklaf kurang lebih 15 menit dengan dipanaskan menggunakan suhu 121°C. Setelah mendidih media dituangkan menuju cawan petri sekitar 25 ml serta didiamkan hingga media memadat (Nurhayati *et al.*, 2020).

g. Pengujian Terhadap Bakteri Secara *In Vitro*

Uji *in vitro* adalah sebuah cara uji dalam media buatan sesuai dengan lingkungan optimal yang dibutuhkan bakteri agar dapat tumbuh serta berkembang, uji perlu dilaksanakan supaya

dapat mengetahui daya kerja antibakteri isolat alga laut *Dichotomaria marginata*. Metode yang dipakai pada pengujian *in vitro* yakni metode *uji agar well diffusion assay* (metode sumuran) sebagai metode uji aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, karena metode tersebut memiliki mekanisme kerja kontak langsung dengan media tidak menggunakan perantara sehingga metode sumuran dapat lebih efektif dalam menarik zat aktif penghambat pertumbuhan bakteri. Dari media MHA yang sudah siap digoreskan secara rapat suspensi bakteri *E. Coli* menggunakan *cotton swab*. Kemudian pada media dibuat 3 lubang sumuran menggunakan tabung *dorham* diameter 6 mm, isi dengan 3 kali replikasi larutan kontrol negatif (DMSO), larutan kontrol positif (Ciprofloxacin) dan konsentrasi setiap sampel sebanyak 0,5 μL tiap lubang. Ciprofloxacin digunakan menjadi kontrol positif dikarenakan ciprofloxacin adalah antibiotik paling baik dipakai dalam pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri *Escherichia coli*, dan Ciprofloxacin memiliki sifat bakteriosidal (mampu membunuh bakteri) dan menjadi hambatan bagi replikasi DNA menggunakan cara yaitu mengikat dirinya pada suatu enzim DNA gyrase mengakibatkan keretakan ganda pada kromosom bakteri (Sumampouw, 2018). Sampel isolat fungi endofit yang digunakan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Selanjutnya

cawan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C kurang lebih 16-20 jam. Adanya penghambatan pertumbuhan bakteri dengan dilakukan pengamatan serta di ukur zona bening yang ada di sekitar sumuran. Parameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam uji aktivitas antibakteri yaitu jika zona bening pada sekitar sumuran berukuran > 6 mm (Wahyuni *et al.*, 2019).

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

3.6.1 Tempat

Tempat penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmasi dan laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung

3.6.2 Waktu

Tabel 3. 1 Waktu Penelitian

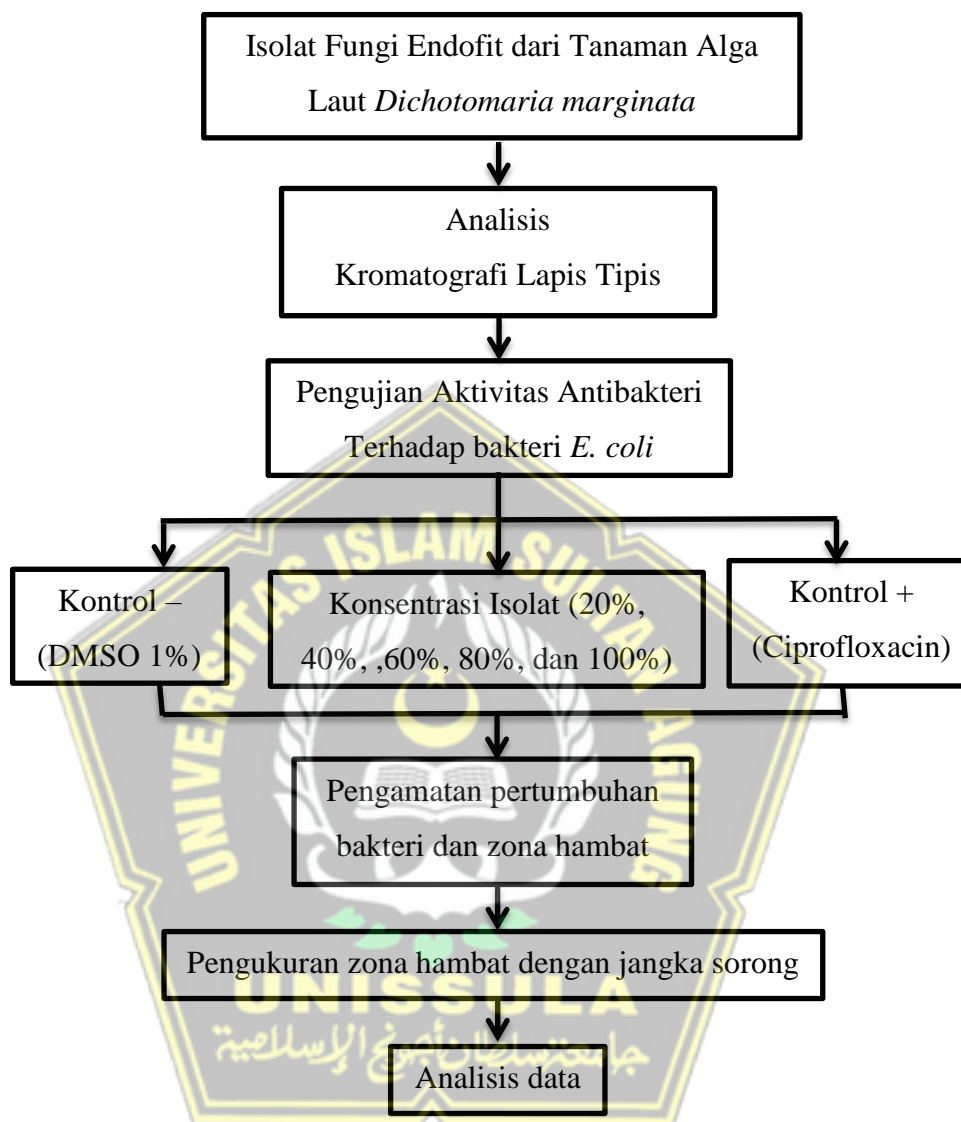
No	Jenis Kegiatan	Waktu					
		Agst 2022	Sep 2022	Okt 2022	Nov 2022	Des 2022	Jan 2023
1.	Pembuatan proposal & Penyiapan sampel						
2.	Determinasi dan isolasi fungi endofit						
3.	Identifikasi bakteri dan uji aktivitas antibakteri						
4.	Analisis KLT						
5.	Analisis data						
6.	Penyusunan draft skripsi						

3.7 Analisis Data

Data hasil uji daya hambat bakteri *Escherichia coli* dianalisis menggunakan analisis statistik, uji *Saphiro Wilk* digunakan untuk menguji normalitas dari data semua kelompok, dan diuji homogenitas dengan uji *Levene Test*. Setelah dilakukan analisis didapatkan data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, kemudian dilakukan uji secara non-parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan selanjutnya di uji *Mann Whitney* untuk mengetahui nilai dari masing-masing kelompok.



3.8 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi serta Mikrobiologi FK UNISSULA, dan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Muhammadiyah Mataram pada September 2022-Januari 2023. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro yang dilaksanakan dengan beberapa tahap, yakni isolat fungi endofit yang sudah jadi dilakukan analisis KLT, pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* serta analisis data.

4.1.1 Determinasi Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

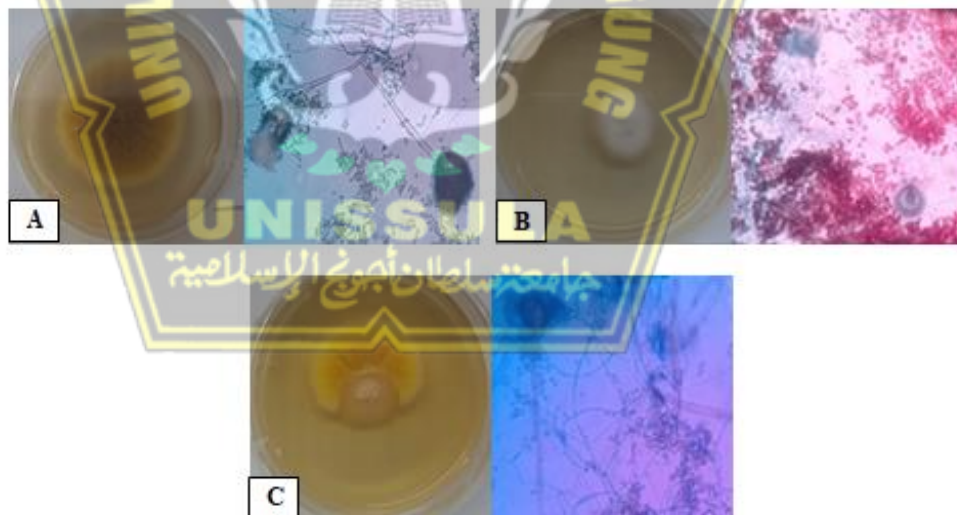
Determinasi tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* dilaksanakan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Muhammadiyah Mataram. Hasil determinasi yang di dapat terlampir pada (Lampiran 3)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Biliphyta
Divisi	: Rhodophyta
Subdivisi	: Eurhodophytina
Kelas	: Florideophyceae
Subkelas	: Nemaliophycidae
Ordo	: Nemaliales

Familia : Galaxauraceae
 Genus : Dichotomaria
 Spesies : Dichotomaria marginata

4.1.2 Isolasi Fungi Endofit

Jumlah isolat fungi endofit murni yang berhasil didapatkan pada penelitian sebelumnya oleh Safwan (2022) melalui proses isolasi dari bagian hifa tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* yaitu berjumlah 3 isolat. Hasil pada penelitian tersebut dari ketiga isolat fungi endofit memiliki karakteristik secara makroskopis serta mikroskopis dikarenakan tiap-tiap isolat mempunyai morfologi yang berbeda. Dapat dilihat pada (Gambar 4.1) (Lampiran 4)



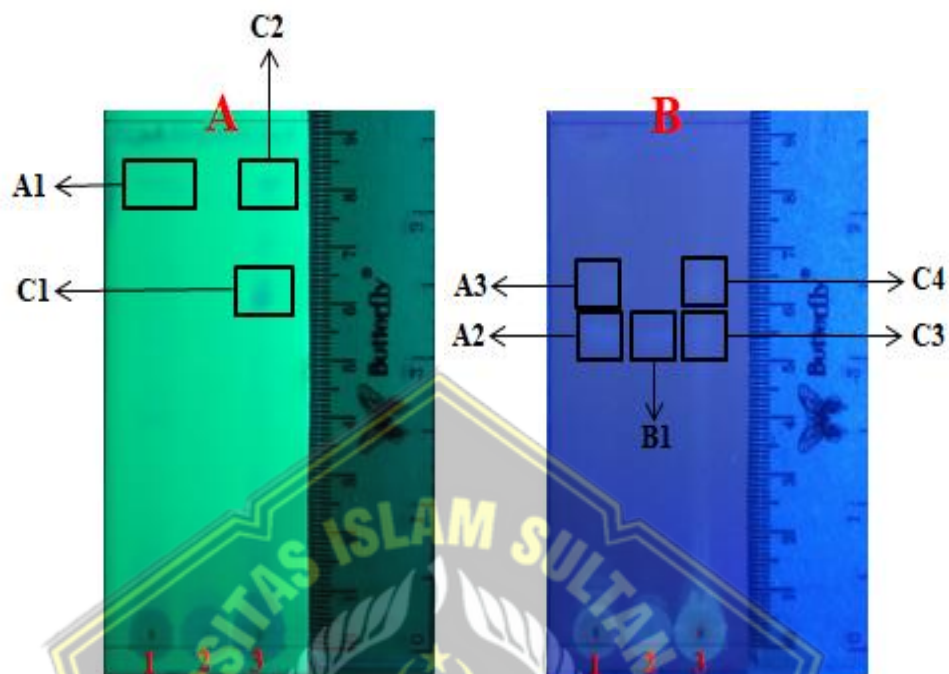
Gambar 4. 1 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata* (A) Isolat Sampel 1 (B) Isolat Sampel 2 (C) Isolat Sampel 3

Tabel 4. 1 Hasil Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Pengamatan	Kode Isolat			
	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	
Makroskopis	Warna Tepi	Kuning	Putih	Putih Kekuningan
	Warna Pigmentasi	Orange kecoklatan	Putih	Kuning kecoklatan
	Tekstur	Kasar	Halus	Kasar
Mikroskopis	Konidia	Bulat	Tidak ada	Bulat
	Konidiofor	Pendek	Tidak ada	Pendek
	Hifa	Bersepta	Tidak ada	Bersepta
	Sporangia	Tidak ada	Bulat	Tidak ada

4.1.3 Analisis KLT

Dalam uji pendahuluan analisis Kromatografi Lapis Tipis bertujuan untuk identifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam isolat fungi endofit berdasarkan nilai RF senyawa hasil KLT. Proses yang terjadi memisahkan komponen campuran senyawa berdasarkan perbedaan dari distribusi molekul komponen antar 2 fase yaitu fase gerak yang digunakan kloroform:metanol dan silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam yang memiliki perberbedaan dengan level kepolaran. Analisis Kromatografi Lapis Tipis dalam isolat fungi endofit terjadi dalam gambar 4.2



Gambar 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit (A) spekto UV 254 nm dan (B) spekto UV 366 nm

Keterangan gambar :

1 : Sampel 1

2 : Sampel 2

3 : Sampel 3

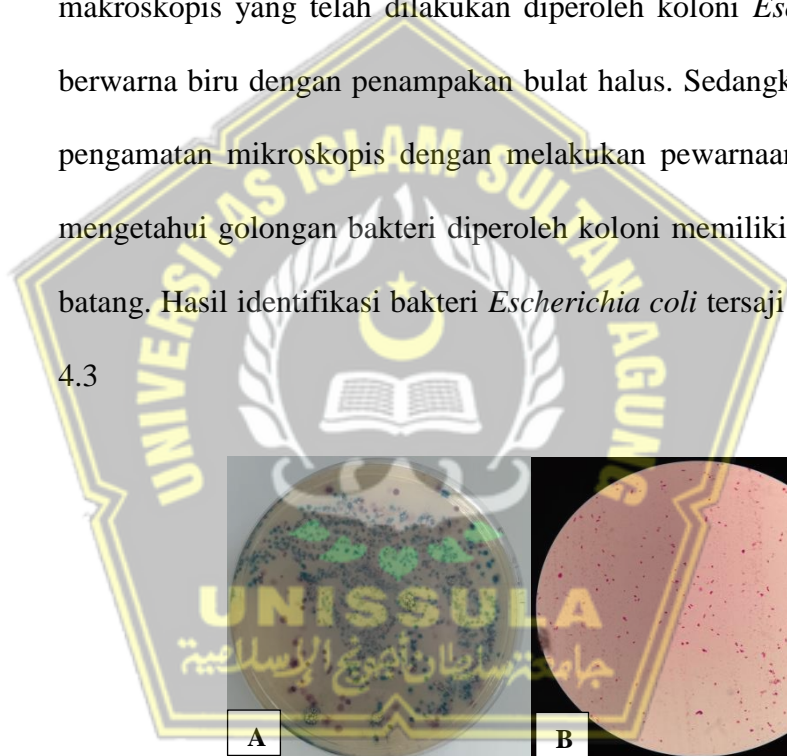
Tabel 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit

UV 254 nm			UV 366 nm		
Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf
A1	Kuning-coklat	0,86	A2	Biru kehijauan	0,59
C1	Biru Tua	0,65	A3	Jingga	0,65
C2	Hitam	0,86	B1	Biru kehijauan	0,59
			C3	Biru kehijauan	0,59
			C4	Jingga	0,65

4.1.4 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dilakukan pengamatan dengan 2 cara, yaitu uji makroskopis dan mikroskopis. Sampel bakteri *Escherichia coli* yang sudah jadi ditanam dalam tabung media BHI (*Brain Heart Infusion*) yang merupakan media cair untuk menumbuhkan semua jenis bakteri. Hasil dari pengamatan makroskopis yang telah dilakukan diperoleh koloni *Escherichia coli* berwarna biru dengan penampakan bulat halus. Sedangkan hasil pada pengamatan mikroskopis dengan melakukan pewarnaan gram untuk mengetahui golongan bakteri diperoleh koloni memiliki warna merah batang. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* tersaji pada Gambar

4.3



Gambar 4. 3 Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*
(A) Makroskopis (B) Mikroskopis

4.1.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode uji *agar well diffusion assay* dengan konsentrasi

20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FK UNISSULA menunjukkan hasil yang tersaji dalam tabel 4.3 (lampiran 6)

Tabel 4. 3 Hasil uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Rerata zona hambat \pm SD (mm)
Sampel 1 20%	0,00 \pm 0,00
Sampel 1 40%	4,66 \pm 4,04
Sampel 1 60%	7,06 \pm 0,51
Sampel 1 80%	7,56 \pm 0,05
Sampel 1 100%	9,00 \pm 0,00
Sampel 2 20%	0,00 \pm 0,00
Sampel 2 40%	7,00 \pm 0,00
Sampel 2 60%	7,16 \pm 0,05
Sampel 2 80%	7,80 \pm 0,01
Sampel 2 100%	5,86 \pm 5,08
Sampel 3 20%	0,00 \pm 0,00
Sampel 3 40%	7,00 \pm 0,00
Sampel 3 60%	7,03 \pm 0,05
Sampel 3 80%	7,60 \pm 0,00
Sampel 3 100%	8,53 \pm 0,05
Kontrol Positif (Ciprofloxacin)	18,50 \pm 0,86
Kontrol Negatif (DMSO)	0,00 \pm 0,00

4.1.6 Analisis Data

Hasil analisis dari uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* menggambarkan bahwa data terdistribusi tidak normal dikarenakan hasil yang diperoleh nilai signifikan $p < 0,05$. Hasil uji normalitas tersaji pada tabel 4.4 (lampiran 7)

Tabel 4. 4 Hasil analisis dari uji normalitas *Shapiro Wilk*

	Kelompok	Nilai <i>p</i>	Keterangan
Zona Hambat	C.10.1 20%	0,000	Tidak Normal
	C.10.1 40%	0,000	Tidak Normal
	C.10.1 60%	0,567	Normal
	C.10.1 80%	0,000	Tidak Normal
	C.10.1 100%	0,000	Tidak Normal
	C.1.2 20%	0,000	Tidak Normal
	C.1.2 40%	0,000	Tidak Normal
	C.1.2 60%	0,000	Tidak Normal
	C.1.2 80%	0,000	Tidak Normal
	C.1.2 100%	0,118	Normal
	C.4.1 20%	0,000	Tidak Normal
	C.4.1 40%	0,000	Tidak Normal
	C.4.1 60%	0,000	Tidak Normal
	C.4.1 80%	0,000	Tidak Normal
	C.4.1 100%	0,000	Tidak Normal
	Kontrol Positif	0,000	Tidak Normal
	Kontrol Negatif	0,000	Tidak Normal

Hasil analisis dari uji homogenitas memakai *Levene's test* menggambarkan bahwa data tidak homogen dikarenakan hasil yang didapatkan nilai signifikan sebesar 0,000 dimana $p < 0,05$. Sehingga dilakukan pengujian non-parametrik uji Kruskal Wallis. Hasil uji homogenitas *Levene's test* tersaji pada tabel 4.5 (lampiran 7)

Tabel 4. 5 Hasil uji homogenitas *Levene's test*

Nilai Sig.	Standard Sig.	Keterangan
0,000	>0,05	Tidak Homogen

Hasil analisis dari uji non-parametrik *Kruskal Wallis* data menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dikarenakan hasil yang didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 dimana $p < 0,05$. Selanjutnya supaya dapat mengetahui perbedaan setiap kelompok,

dilaksanakan uji *Mann Whitney*. Hasil uji *Kruskal Wallis* tersaji pada tabel 4.6 (lampiran 7)

Tabel 4. 6 Hasil Uji non-parametrik *Kruskal Wallis*

Nilai Sig.	Standard Sig.	Keterangan
0,000	<0,05	Terdapat perbedaan bermakna

Hasil analisis dari uji *Mann Whitney* dengan membandingkan data masing-masing kelompok menunjukkan terdapat perbedaan bermakna apabila ($p < 0,05$) dan menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna apabila ($p > 0,05$). Hasil uji *Mann Whitney* tersaji pada tabel 4.7 (lampiran 7)

Tabel 4. 7 Hasil Uji *Mann Whitney*

Kelompok	Nilai <i>p</i>	Keterangan
1 dan 5	0,025	Signifikan
1 dan 16	0,034	Signifikan
2 dan 5	0,034	Signifikan
2 dan 16	0,043	Signifikan
3 dan 5	0,037	Signifikan
3 dan 16	0,046	Signifikan
4 dan 5	0,034	Signifikan
4 dan 16	0,043	Signifikan
5 dan 6	0,025	Signifikan
5 dan 7	0,025	Signifikan
5 dan 8	0,034	Signifikan
5 dan 9	0,034	Signifikan
5 dan 10	0,037	Signifikan
5 dan 11	0,025	Signifikan
5 dan 12	0,025	Signifikan
5 dan 13	0,034	Signifikan
5 dan 14	0,025	Signifikan
5 dan 15	0,034	Signifikan
5 dan 16	0,034	Signifikan
6 dan 16	0,034	Signifikan
7 dan 16	0,034	Signifikan
8 dan 16	0,043	Signifikan

9 dan 16	0,043	Signifikan
10 dan 16	0,046	Signifikan
11 dan 16	0,034	Signifikan
12 dan 16	0,034	Signifikan
13 dan 16	0,043	Signifikan
14 dan 16	0,034	Signifikan
15 dan 16	0,043	Signifikan

Keterangan :

Kelompok 1 : Sampel 1 20%

Kelompok 2 : Sampel 1 40%

Kelompok 3 : Sampel 1 60%

Kelompok 4 : Sampel 1 80%

Kelompok 5 : Sampel 1 100%

Kelompok 6 : Sampel 2 20%

Kelompok 7 : Sampel 2 40%

Kelompok 8 : Sampel 2 60%

Kelompok 9 : Sampel 2 80%

Kelompok 10 : Sampel 2 100%

Kelompok 11 : Sampel 3 20%

Kelompok 12 : Sampel 3 40%

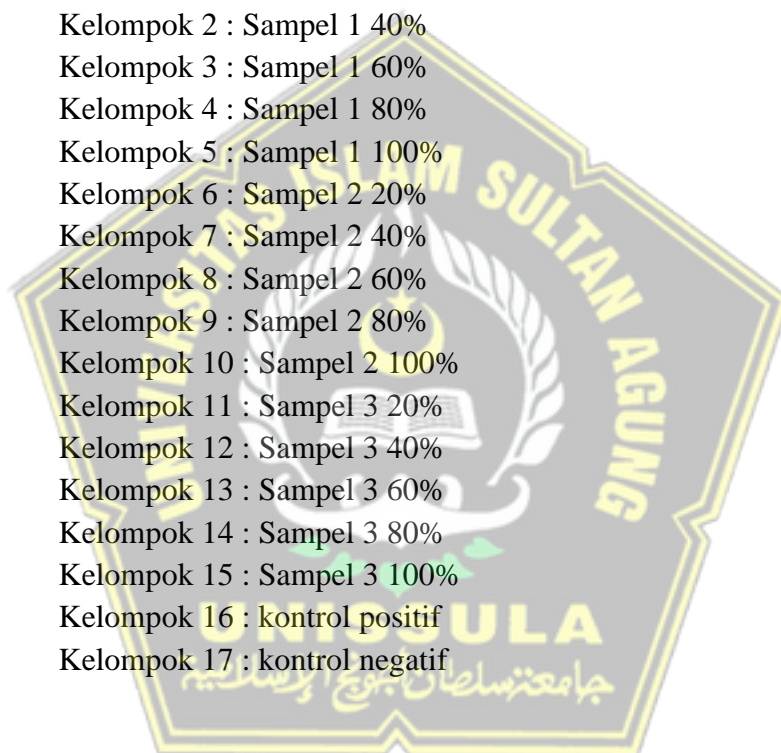
Kelompok 13 : Sampel 3 60%

Kelompok 14 : Sampel 3 80%

Kelompok 15 : Sampel 3 100%

Kelompok 16 : kontrol positif

Kelompok 17 : kontrol negatif



4.2 Pembahasan

4.2.1 Determinasi

Determinasi bertujuan agar memperoleh identitas dari tanaman yang diteliti dengan benar dan jelas supaya menghindari terjadinya kesalahan pada saat pengambilan bahan utama pada penelitian (Diniatik, 2015). Penelitian ini menggunakan tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* yang berasal dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara. Determinasi tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* dilaksanakan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Muhammadiyah Mataram. Hasil determinasi yang di dapat menjelaskan bahwa tanaman yang dipakai pada penelitian ini adalah alga laut *Dichotomaria marginata* berasal dari famili *Galaxauraceae* spesies *Dichotomaria marginata*.

4.2.2 Isolasi

Proses isolasi diawali dengan pemilihan tanaman inang yang harus sesuai dengan kriteria yaitu sehat, segar, bebas dari penyakit, dan mempunyai pertumbuhan yang baik. Proses ini perlu dilakukan agar sampel yang digunakan dalam isolasi tidak menjadi sumber kontaminan sehingga kondisi hasil isolat fungi endofit tetap terjaga. Sampel tanaman diambil dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara, hal tersebut menjadi kendala pada penelitian ini dikarenakan jarak yang

jauh antara Mataram dengan Semarang membuat sampel tanaman segar tidak memungkinkan dikirim untuk memenuhi persyaratan proses isolasi fungi endofit, serta peneliti tidak memungkinkan hadir secara langsung di lokasi penelitian. Dari keterbatasan tersebut proses isolasi fungi endofit dilakukan di Universitas Muhammadiyah Mataram, sedangkan proses uji antibakteri dilakukan di Universitas Islam Sultan Agung Semarang sebagai bentuk implementasi kerjasama penelitian antar Universitas (Dewi *et al.*, 2020).

Isolasi fungi endofit metode tanam langsung menggunakan media padat dilakukan sebagai upaya tidak terjadi pencampuran antar biakan agar diperoleh hasil biakan murni dengan cara memisahkan mikroorganisme dari lingkungan yang mudah ditumbuhi, sehingga fungi endofit yang diperoleh memiliki kandungan yang mirip dengan inangnya (Aqlinia *et al.*, 2020). Jika dibandingkan dengan isolasi senyawa organik bahan alami merupakan tahap untuk pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan menghasilkan 1 senyawa metabolit murni (Kristiandi *et al.*, 2021).

4.2.3 Analisis KLT

Uji penegasan atau analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk identifikasi kandungan senyawa-senyawa metabolit yang terkandung dalam tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*. Dengan plat KLT (silica gels GF₂₅₄) sebagai fase diam (adsorben) serta fase gerak (eluen) menggunakan kloroform:methanol yang

bersifat polar dengan perbandingan 9:1, fungi endofit memproduksi senyawa metabolit mirip dengan inangnya sehingga senyawa yang terkandung pada isolat fungi endofit merupakan senyawa bersifat polar, dengan menggunakan eluen tersebut dapat dengan mudah mengidentifikasi senyawa dan memunculkan noda pada lempeng. Berdasarkan hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) didapatkan nilai Rf serta warna bercak noda dari elusi pada plat KLT yang menunjukkan dugaan kandungan senyawa pada tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*. Bercak noda dideteksi pada lampu UV 254 nm serta 366 nm, panjang gelombang pendek (254 nm) dengan prinsip noda berwarna gelap serta lempeng memberikan fluoresensi sedangkan panjang gelombang panjang (366 nm) didasarkan pada lempeng yang berwarna gelap dan noda memberikan fluoresensi (Forestryana & Arnida, 2020). Adapun hasil yang diperoleh pada penotolan isolat di plat KLT dapat diamati pada Gambar 4.2. Menunjukkan hasil pengamatan pada UV 254 nm terdapat 3 spot bercak noda yaitu pada noda A1, C1, dan C2 dengan tiap-tiap nilai Rf 0,86, 0,65 serta 0,86. Diduga pada noda A1 merupakan senyawa flavonoid yang ditandai dengan nilai Rf 0,86 serta timbul bercak noda yang memiliki warna kuning-coklat, hal tersebut telah memasuki rentang baku pembanding kuersetin 0,69-0,81 dengan bercak noda yang berwarna kuning atau kuning-coklat (Ferdinan & Sri Rizki, 2021). Pada noda C1 diduga termasuk senyawa saponin dikarenakan

menurut penelitian senyawa saponin dengan baku pembanding sapogenin nilai Rf 0,62 (Sopianti, 2018) dengan bercak noda berwarna merah, kuning, biru tua, ungu dan hijau (Arnida *et al.*, 2021). Jika dibandingkan dengan hasil yang didapatkan menunjukkan nilai Rf 0,65 dan noda berwarna biru tua telah positif mengandung senyawa saponin. Noda C2 tampak hasil yang memiliki warna hitam yang mempunyai nilai Rf 0,86 diduga terdapat senyawa fenol, sesuai berdasarkan penelitian bahwa senyawa fenol memiliki standart nilai Rf 0,76 dengan warna bercak noda hitam, ungu, biru tua dan coklat tua (Fajriaty *et al.*, 2018)(Suputri *et al.*, 2021)

Hasil pengamatan analisis KLT pada UV 366 nm diperoleh 5 spot bercak noda yaitu noda A2, A3, B1, C3, dan C4 dengan nilai Rf masing-masing 0,59; 0,65; 0,59; 0,59; dan 0,65. Pada noda A2, B1, dan C3 diduga merupakan senyawa steroid dikarenakan pada hasil menunjukkan nilai Rf 0,59 yang menimbulkan bercak noda berwarna biru kehijauan, sedangkan jika dibandingkan menurut penelitian hasil nilai Rf yang diperoleh mendekati baku pembanding β -sitosterol sebesar 0,66 (Sopianti, 2018) dengan bercak berwarna biru violet atau hijau-biru (Fajriaty *et al.*, 2018). Tampak pada spot bercak A3 dan C4 berwarna jingga dan memiliki Rf 0,65 diduga terdapat senyawa alkaloid, hal tersebut telah sesuai dimana senyawa alkaloid menurut penelitian menghasilkan bercak coklat atau jingga dengan nilai standart Rf 0,07-0,62 (Arnida *et al.*, 2021) (Tjandra *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil yang telah dilaksanakan terkait analisis KLT pada tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* yang didapatkan positif memiliki kandungan senyawa metabolit flavonoid, steroid, saponin, fenol, serta alkaloid. Sejalan dengan penelitian yang disampaikan oleh (Pandén et al., 2019) menjelaskan bahwa pada alga merah (*Rhodophyta*) jenis makro alga dari famili *Galaxauracea*, yaitu tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki kandungan zat metabolit yang berpotensi sebagai antibakteri yakni senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid serta steroid. Dalam analisis KLT mampu untuk dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu kesesuaian pelarut dalam fase gerak yang digunakan, ketebalan adsorben, pemilihan metode visualisasi yang tepat dan kelebihan dalam proses penotolan sampel akan menghasilkan peningkatan nilai Rf yang sedikit (Fajriaty et al., 2018).

4.2.4 Identifikasi Bakteri

Proses identifikasi bakteri *Escherichia coli* dilaksanakan pengamatan dengan 2 cara, yaitu uji makroskopis dan mikroskopis. Sampel bakteri *Escherichia coli* yang sudah jadi ditanam dalam tabung media BHI (*Brain Heart Infusion*) yang merupakan media cair untuk menumbuhkan semua jenis bakteri. Hasil dari pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat morfologi diperoleh koloni *Escherichia coli* berwarna biru dengan penampakan bulat halus, hal

tersebut telah sesuai menurut Indarjulianto (2021) yang menyebutkan bahwa identifikasi bakteri *Escherichia coli* dengan penanaman pada media selektif *Harlequin* menghasilkan pertumbuhan koloni berwarna biru berbentuk batang. Hasil pada pengamatan mikroskopis dengan melakukan pewarnaan pada gram supaya dapat mengetahui perbedaan antara bakteri gram positif dan gram negatif, golongan bakteri diperoleh koloni berwarna merah berbentuk batang, jika dibandingkan dengan penelitian pada uji pewarnaan gram membuktikan hasil telah sesuai positif mengandung bakteri *Escherichia coli* gram negatif pada mikroskop berwarna merah. Pada proses pewarnaan terdapat perubahan warna ketika pemberian alkohol dikarenakan telah terjadi dekolonisasi (penghilangan cat) yang disebabkan oleh dinding sel pada bakteri dengan jenis gram negatif memiliki kandungan peptidoglikan yang sedikit serta dan tidak memiliki asam teicoat sehingga mengakibatkan bakteri dengan jenis gram negatif mudah mengalami kerusakan mekanis, dinding sel bakteri kehilangan warna dan akan berubah warna merah sesuai dengan pewarna cat terakhir yang diberikan yaitu safranin (Tivani *et al.*, 2019).

4.2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode atau cara yang dipakai pada uji aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode *uji agar well diffusion assay* (metode sumuran), karena metode tersebut memiliki

mekanisme kerja kontak langsung dengan media tidak menggunakan perantara sehingga metode sumuran dapat lebih efektif dalam menarik zat aktif penghambat pertumbuhan bakteri dan lebih mudah dalam mengukur luas daerah hambatan yang terbentuk oleh aktivitas bakteri sampai ke bawah permukaan media bukan hanya di permukaan atas melainkan hingga ke bawah (Nurhayati *et al.*, 2020). Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dijadikan sebagai media yang baik untuk kultur semua jenis bakteri dengan keuntungan mengandung berbagai zat makanan atau nutrisi bagi pertumbuhan bakteri aerob ataupun anaerob serta tidak berpengaruh dalam proses uji antibakteri karena bersifat netral (Utomo *et al.*, 2018).

Pengamatan pada uji antibakteri dilihat dari zona hambat atau daerah bening yang ada disekitar sumuran serta diukur menggunakan jangka sorong. Menurut penelitian Utomo (2018) ada beberapa kategori kekuatan daya hambat antibakteri yaitu kategori yang lemah jika diameter zona hambat yang dimiliki adalah < 5 mm, kategori sedang diameter zona hambat yang dimiliki adalah 5-10 mm, kategori kuat diameter zona hambat yang dimiliki adalah 11-20 mm, dan kategori sangat kuat berada pada diameter zona hambat yang dimiliki adalah > 20 mm. Berdasarkan hasil uji antibakteri yang telah dilaksanakan dapat diamati pada tabel 4.3 (lampiran 6) bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan masuk ke dalam kategori sedang, kecuali pada sampel 1 konsentrasi 20% dan 40%, sampel 2

konsentrasi 20% dan 100%, dan sampel 3 konsentrasi 20% termasuk kategori lemah karena memiliki diameter zona hambat tidak terdapat aktivitas. Sampel yang mempunyai diameter zona hambat terbesar yakni sampel 1 konsentrasi 100% dengan diameter $9,00 \pm 0,00$ mm. Hal tersebut telah sejalan dengan penelitian Yulianti & Baso Manguntungi (2018) yang menyebutkan bahwa hasil uji antibakteri alga laut merah famili *Galaxauraceae* terhadap bakteri gram negatif *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100% mempunyai diameter zona hambat sebesar 2,33 mm. Dalam uji aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu konsentrasi sampel yang digunakan akan berpengaruh terhadap besar atau kecilnya kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji, aktivitas antibakteri semakin meningkat apabila konsentrasi sampel semakin besar, pada senyawa antibakteri terjadi perbedaan kecepatan difusi dan perbedaan ketebalan bakteri yang dioleskan pada media agar (Utomo *et al.*, 2018).

Dari uji *Mann Whitney* hasil menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok 3 [Sampel 1 60%], kelompok 4 [Sampel 1 80%], kelompok 5 [Sampel 1 100%], kelompok 7 [Sampel 2 40%], kelompok 8 [Sampel 2 60%], kelompok 9 [Sampel 2 80%], kelompok 12 [Sampel 3 40%], kelompok 13 [Sampel 3 60%], kelompok 14 [Sampel 3 80%], dan kelompok 15 [Sampel 3 100%] diperoleh nilai signifikan yaitu

$p < 0,05$. Dari hasil tersebut jika terdapat kelompok yang menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif maka memiliki aktivitas yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Kemudian hasil uji *Mann Whitney* juga menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara setiap kelompok [kelompok 1-15] dengan kelompok kontrol positif diperoleh nilai signifikansi yakni $p < 0,05$. Sehingga mampu untuk dibuat kesimpulan bahwa kemampuan sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* belum sekuat kontrol positif. Selain itu hasil uji *Mann Whitney* antara kelompok 5 [Sampel 1 100%] dengan kelompok lainnya terdapat perbedaan bermakna, diperoleh nilai signifikansi yaitu $p < 0,05$. Hasil tersebut menggambarkan bahwa kelompok 5 [Sampel 1 100%] lebih efektif dalam membuat hambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* apabila dibandingkan dengan kelompok lainnya (Fauzi & Sisilia, 2020).

Escherichia coli termasuk bakteri dengan jenis gram negatif dengan dinding sel yang tersusun oleh 3 komponen yakni lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida serta lapisan dalam peptidoglikan. Lapisan luar memiliki kandungan molekul protein dikenal dengan porin yang memiliki sifat polar (hidrofilik) sehingga pada sampel 1 konsentrasi 100% memiliki kemampuan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* lebih besar apabila dibandingkan dengan sampel lainnya, disebabkan oleh adanya persamaan sifat polar (hidrofilik) dari porin dan senyawa yang terkandung pada sampel

(Yulianti & Baso Manguntungi, 2018). Berdasarkan hasil analisis KLT terlihat bahwa metabolit sekunder pada sampel 1 memiliki kandungan senyawa flavonoid, steroid, dan alkaloid. Pada senyawa flavonoid bersifat polar yang mampu menembus peptidoglikan dan memiliki mekanisme kerja merusak permeabilitas dinding sel bakteri, lisosom bakteri dan mikrosom bakteri. Diduga adanya sifat antibakteri karena terdapat gugus hidroksil (OH) yang mengakibatkan transport makanan serta perubahan komponen organik yang memicu timbulnya efek toxic terhadap bakteri, serta mengkoagulasi protein pada bakteri yang menyebabkan bakteri tidak berkembang (Egra *et al.*, 2019). Sebagai antibakteri steroid memiliki mekanisme kerja merusak membran lipid yang mengakibatkan liposom terjadi kebocoran. Diduga steroid memiliki sifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik, mampu berinteraksi dengan membran fosfolipid sel sehingga terjadi morfologi membran yang berubah yang memicu sel mengalami lisis (Anggraini *et al.*, 2019). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja memperlambat proses pembentukan sintesis protein yang menyebabkan gangguan metabolisme bakteri. Diduga senyawa alkaloid bersifat polar sebagai antibakteri mempunyai gugus aromatik, sehingga dapat mengganggu peptidoglikan yang memiliki peran sebagai penyusun terkandung dalam sel bakteri hingga sel tersebut mati (Anggraini *et al.*, 2019) (Sudarmi *et al.*, 2017).

Selain itu terdapat senyawa metabolit yang terkandung pada sampel dan berpotensi sebagai antibakteri yaitu saponin dengan mekanisme kerja yang membuat tegangan permukaan dinding sel bakteri menjadi turun serta kerusakan permeabilitas membran sehingga mengakibatkan kebocoran sel bakteri. Senyawa saponin diduga bersifat antibakteri dikarenakan memiliki 2 gugus yaitu gugus hidrofilik yang dapat larut dengan zat bersifat polar dan gugus lipofilik yang dapat larut dengan zat bersifat nonpolar, senyawa saponin berdifusi melewati membran sitoplasma membuat terganggunya kestabilan membran dan kebocoran yang dialami keluar dari sel sehingga terjadi apoptosis dari sel (Sudarmi *et al.*, 2017). Senyawa fenol dengan mekanisme kerja menyebabkan permeabilitas membran sitoplasma mengalami peningkatan sehingga mengakibatkan komponen intraseluler menjadi bocor. Diduga senyawa fenol bersifat bakterisidal karena memiliki gugus fungsi hidroksil (OH) dan dapat memutuskan ikatan peptidoglikan yang menyebabkan dinding bakteri rusak (Sudarmi *et al.*, 2017)(Egra *et al.*, 2019).

Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena merupakan antibiotik paling baik digunakan untuk infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *Escherichia coli*, menurut penelitian Sumampouw (2018) menyebutkan bahwa Ciprofloxacin memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat paling besar daripada antibiotik lain

yaitu sebesar 35 mm. Dari hasil penelitian ini diperoleh diameter zona hambat kontrol positif Ciprofloxacin $18,50 \pm 0,86$ mm termasuk dalam kategori kuat. Ciprofloxacin dengan sifat bakterisidal (mampu membunuh bakteri), menghambat replikasi DNA dengan cara mengikat dirinya pada suatu enzim DNA gyrase mengakibatkan keretakan ganda pada kromosom bakteri serta mengganggu sintesis protein, termasuk mekanisme kerja yang sama dengan senyawa metabolit flavonoid, saponin, steroid, fenol dan alkaloid (Sumampouw, 2018).

DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif dalam penelitian ini karena merupakan pelarut untuk pembuatan konsentrasi isolat fungi endofit. DMSO dipilih karena dapat membuat larut senyawa polar serta nonpolar yang juga larut pada berbagai pelarut organik ataupun air. Hasil penelitian pada kontrol negatif tidak diperoleh diameter zona hambat. Hal tersebut telah sesuai dengan penelitian yang menyebutkan pada kontrol negatif DMSO tidak membuat daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak menjadi pengganggu dalam hasil pengamatan, serta membuktikan bahwa diameter zona hambat yang didapatkan pada penelitian ini bukan bersumber dari pelarut yang digunakan, melainkan benar bersumber dari sampel (Octaviani & Rahima, 2021).

Keterbatasan pada penelitian ini ialah belum diketahui jenis fungi endofit yang spesifik, sehingga perlu dilakukan identifikasi fungi endofit dari isolasi tanaman alga laut *Dichotomaria marginata*.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pada sampel 1, 2, dan 3 isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki nilai $p < 0,05$ terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol positif sehingga kemampuan sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* belum sekuat kontrol positif.
2. Diameter zona hambat aktivitas antibakteri isolat fungi endofit tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* masuk ke dalam kategori sedang

5.2 Saran

1. Perlu dilaksanakan identifikasi jenis fungi endofit agar lebih spesifik
2. Perlu dilaksanakan penelitian lanjutan untuk mengetahui aktivitas yang lain

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani Da, R., & Ma'arif ZA, B. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96 % Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 61–66.
- Anisah, & Rahayu, T. (2015). Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda Alternative Media For Bacterial Growth Using Different Source of Carbohidrats. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 10(1), 855–860.
- Arivo, Debi; Anissatussholeha, N. (2017). Pengaruh Tekanan Osmotik Ph, Dan Suhu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Journal of Medical and Health Sciences*, 4, 153–160.
- Arnida, Bittaqwa, E. A., Rahmatika, D., & Sutomo. (2021). Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Rimpang Purun Danau (*Lepironia articulata* (Retz .) Domin). Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah, 6(2), 1–6.
- Atun, S. (2014). Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*, 8(2), 53–61. <https://doi.org/10.33374/jurnalkonservasicagarbudaya.v8i2.132>
- Demissie, G. D., Yeshaw, Y., Aleminew, W., & Akalu, Y. (2021). Diarrhea and associated factors among under five children in sub-Saharan Africa: Evidence from demographic and health surveys of 34 sub-Saharan countries. *PLoS ONE*, 16(9 September), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257522>
- Dewi, P. K., Rossiana, N., & Indrawati, I. (2020). Diversitas Mikrofungi Zona Intertidal Dan Subtidal Pantai Barat Pananjung Pangandaran. *Jurnal Agrinika: Jurnal Agroteknologi Dan Agribisnis*, 4(1), 15–27. <https://doi.org/10.30737/agrinika.v4i1.795>
- Diniatik. (2015). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode

- Spektrofotometri. *Pharmaqueous : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(1), 46–56.
<https://doi.org/10.36760/jp.v3i1.269>
- Effendi, F., P. Roswiem, A., & Stefani, E. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1–9.
<https://doi.org/10.33751/jf.v4i2.185>
- Egra, S., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., Pertanian, F., Tarakan, U. B., Kehutanan, F., & Mulawarman, U. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. 12(1), 26–31.
- Etikasari, R., Murharyanti, R., & Wiguna, A. S. (2017). Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak *Sarcophyton sp.* sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 2(1), 28–36.
- Fajriaty, I., Ih, H., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol daun bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 7(1), 54–67.
- Fauzi, N. R., & Sisilia, K. (2020). Analisis Perbandingan Keputusan Pembelian Online Dan Offline Customer Pada or-K 689 Clothing. *Jurnal Menara Ekonomi : Penelitian Dan Kajian Ilmiah Bidang Ekonomi*, 6(2), 34–40.
<https://doi.org/10.31869/me.v6i2.1812>
- Fithri, N. K., Handayani, P., & Vionalita, G. (2016). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Jumlah Mikroorganisme Udara Dalam Ruang Kelas Lantai 8 Universitas Esa Unggul. *Forum Ilmiah*, 13(1), 15–16.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2019). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16 (2), 101–108.
<https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Forestryana, D., & Arnida. (2020). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari Phytochemical Screenings and Thinlayer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (Hydrolea Spinosa L.)* Skrining Fitokimia dan Analisis

- Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahariri*, 11(2), 113–124.
- Gitaswari, D. A. I., & Budayanti, S. (2019). Identifikasi Subtipe Enterotoxigenic *Escherichia coli* Dan *Enteraggative Escherichia coli* Dari Spesimen Usap Dubur Penjamah Makanan Di Denpasar Menggunakan Polymerase Chain Reaction. *E-Jurnal Medika Udayana*, 8(1), 7. <https://doi.org/10.24922/eum.v8i1.45223>
- Halim, F., Warouw, S. M., Rampengan, N. H., & Salendu, P. (2017). Hubungan Jumlah Koloni *Escherichia Coli* dengan Derajat Dehidrasi pada Diare Akut. *19(2)*, 81–85.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. (2015). Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(4), 146–153. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i4.32>
- Hidayah, Amananti, W., & Febriyanti, R. (2021). *Skrining Fitokimia Daun Waru (Hibiscus tiliaceus)* Di Kawasan Brebes, Tegal, Dan Pemalang. X, 1–7.
- Indarjulianto, S., Widyarini, S., Bayu Suparta, G., Nururrozi, A., Raharjo, S., Yobelanno Sitompul, Y., Tidariani, I., Ekawati, A., Cahya Nalasukma, M., Ilmu Penyakit Dalam, D., Kedokteran Hewan, F., Gajah Mada, U., Patologi, D., Fisika, D., Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F., Gajah Mada Sekip Utara, U., Klinik, D., Nutrisi, dan, Nusa Cendana, U., ... Yogyakarta, K. (2021). Pemilihan Antibiotika pada Anjing Diare yang Terinfeksi *Escherichia coli* Antibiotic of Choice for Diarrhea on Dogs Caused by *Escherichia coli*. 39(1), 47–54.
- Kasanah, N., Ulfah, M., & Al., A. N. et. (2021). Rumput Laut Indonesia Keanekaragaman Rumput Laut Nusa Tenggara Timur. Gajah Mada University Press.
- Lusi, L. R. H. D. F. W. A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacon*, 5(2), 282–289.
- Munthari, R. (2021). Indonesian Journal of Public Health and Nutrition Article

Info. Indonesian Journal of Public Health and Nutrition, 1(1), 101–113.

<http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/IJPHN>

- Muslim, Z., Novrianti, A., Irnamera, D., Kemenkes Bengkulu, P., Nomor, J. I., Harapan, P., & Bengkulu, K. (2020). Sanitas: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan Resistance Test of Bacterial Causes of Urinary Tract Infection Against Ciprofloxacin and Ceftriaxone Antibiotics. *Online*, 11(2), 203–212.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Octaviani, M., & Rahima, H. F. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Buah *Syzygium polyanthum* Wigh Walp Terhadap Bakteri Gram Negatif. 6(2), 297–306.
- Panden, T., Pelealu, J. J., & Singkoh, M. (2019). Uji Bioaktivitas Ekstrak Etanol Alga Merah *Galaxaura oblongata* (Ellis dan Solonder) Lamouroux. Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen. (Bioactivity Test of Red Algae *Galaxaura oblongata* (Ellis and Solonder) Lamouroux Ethanol Extract Against Several Types. *Jurnal Bios Logos*, 9(2), 67. <https://doi.org/10.35799/jbl.9.2.2019.24371>
- Putri, M. A., & Raharjo, S. J. (2019). Profilkromatografi Metabolit Sekunder Air Perasan Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang*, 1–8.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 5.
- Rudiyansyah, A. I., Wahyuningsih, N. E., & Kusumanti, E. (2015). Pengaruh Suhu, Kelembaban, Dan Sanitasi Terhadap Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Salmonella* Di Kandang Ayam Pada Peternakan Ayam Broiler Kelurahan Karanggeneng Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)*, 3(April), 196–201.

- Safwan, S., Wang, S., Hsiao, G., Hsiao, S., Hsu, S., Lee, T., & Lee, C. (2022). New Trichothecenes Isolated from the Marine Algicolous Fungus *Trichoderma brevicompactum*. 1–10.
- Sakinah, A. A. A., Mauboy, R. S., & Refli. (2019). Penggunaan Media Tepung Limbah Ikan Cakalang Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biotropikal Sains*, 16(3), 36–46.
- Sari, S. N., Apriliana, E., Susianti, & Soleha, T. U. (2019). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Sumur Gali di Kelurahan Kelapa Tiga, Kaliawi Persada dan Pasir Gintung Kota Bandar Lampung. *Medula*, 9(1), 57–65.
- Schneider, C. W., Popolizio, T. R., Spagnuolo, D. S., & Lane, C. E. (2016). Notes on the marine algae of the Bermudas. 15. *Dichotomaria huismanii* (*Galaxauraceae*, *Rhodophyta*), a new species in the *D. marginata complex* from the western Atlantic. *Botanica Marina*, 59(1), 13–29. <https://doi.org/10.1515/bot-2015-0068>
- Sudarmi, K., Bagus, I., Darmayasa, G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Atcc Phytochemical And Inhibition Of Juwet Leaf Extract (*Syzygium cumini*) On Growth *Escherichia coli* And *Staphylococcus* . *September*, 47–51.
- Sumampouw, O. J. (2018). Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado (The Sensitivity Test of Antibiotics to *Escherichia coli* was Caused The Diarrhea on Underfive Children in Manado City). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 105.
- Suputri, Y. D., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (*Zea mays* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 109. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3758>
- Sutiknowati, L. I. (2016). “Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*.” *Jurnal Oseana*, 41(4), 63–71.
- Tara Inastu Kandarp, Prasetyaningsih, A., & Cantya Prakasita, V. (2021). Uji

- Efektivitas Epikarpium Buah Nangka (*artocarpus heterophyllus lamarck.*) Sebagai Sediaan Krim Tabir Surya UV-B. *EduMatSains : Jurnal Pendidikan, Matematika Dan Sains*, 6(1), 31–46. <https://doi.org/10.33541/edumatsains.v6i1.2798>
- Tivani, I., Wilda, A., & Ahmad, S. (2019). Uji Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Jamu Gendong Kunyit Asem Di Kabupaten Tegal. 8(1), 31–35.
- Tjandra, R. F., Fatimawali, ., & Datu, O. S. (2020). Analisis Senyawa Alkaloid dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper betle* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal E-Biomedik*, 8(2), 173–179. <https://doi.org/10.35790/ebm.v8i2.28963>
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v3i3.22742>
- Wahyuni, R. A., Putri, I. Y., Jayadi, E. L., & Prastiyanto, M. E. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Terhadap Bakteri Extended Spectrum Betalactamase (ESBL) *Escherichia coli* Dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Antibacterial. *Jurnal Media Analisis Kesehatan ISSN*, 10(2), 106–118.
- Wang, Z., Sun, Q., Zhang, H., Wang, J., Fu, Q., Qiao, H., & Wang, Q. (2021). Insight into antibacterial mechanism of polysaccharides: A review. *Lwt*, 150(April), 111929. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111929>
- Yulianti, Y., & Baso Manguntungi, A. Y. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Pantai Luk, Sumbawa terhadap *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.24002/biota.v3i1.1888>