

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT ALGA LAUT
Dichotomaria marginata TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538 SECARA IN VITRO**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagai persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Diajukan Oleh

Aulia Rahmadhina Putri

33101800016

Kepada

PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2023

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT ALGA LAUT
Dichotomaria marginata TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538 SECARA IN VITRO**

Dipersiapkan dan Disusun oleh

Aulia Rahmadhina Putri

33101800016

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 Susmayanti, M.Sc

Pembimbing II



Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc

Anggota Tim Penguji II



Apt. Chintiana Nindya P, M.Farm

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 : Aulia Rahmadhina Putri

NIM : 33101800016

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT ALGA LAUT

Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus

ATCC 6538 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



Aulia Rahmadhina Putri

SURAT PERNYATAAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Aulia Rahmadhina Putri

NIM : 33101800016

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

No HP/Email : 0895415471926/auliadhina43@gmail.com

Dengan ini menyatakan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul :

**“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT ALGA LAUT
Dichotomaria marginata TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538 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.

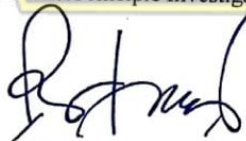
Pernyataan ini saya buat dengan sungguh sungguh. Apabila di kemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karya tulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Mengetahui,

Semarang, 06 Maret 2023

Dosen Peneliti/Principle Investigator

Yang Menyatakan



Apt. Rina Wijayanti, M.Sc

NIDN : 0618018201



Aulia Rahmadhina Putri

NIM : 33101800016

PRAKATA



Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberi limpahan hidayah, taufik dan rahmat-Nya, sehingga skripsi berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT ALGA LAUT *Dichotomaria marginata* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 SECARA IN VITRO”** dapat diselesaikan penulis sebagai prasyarat dalam mencapai Program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Unissula Semarang. Sholawat salam tidak lupa senantiasa turunkan pada Nabi Muhammad SAW, dan para sahabat, keluarganya, serta para pengikut.

Melalui terselesaikannya skripsi ini, penulis berkesempatan untuk menghaturkan ucapan terima kasih pada segenap pihak yang sudah membantu tersusunnya skripsi ini, di antaranya yaitu:

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Unissula Semarang.
2. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku Kepala Prodi Farmasi Unissula Semarang.
3. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc. selaku dosen pembimbing II yang sudah memberi masukan, bimbingan serta arahan pada penulis secara sabar dan penuh pengertian untuk penyelesaian penelitian skripsi ini.
4. Ibu Windi Susmayanti, M.Sc. selaku penguji I dan Ibu Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm. selaku penguji II yang sudah memberi banyak saran juga masukan kepada penulis kaitannya untuk perbaikan isi di dalam skripsi ini.
5. LPPM Unissula yang telah membiayai dan mendanai penelitian ini melalui skema penelitian internal tahun 2022.

6. Orang tua tercinta, Bapak Mohamad Sodikin serta Ibu Sri Riana Muhani, adik tercinta Mohamad Dzikri Ar-rozzaq dan Mohamad Rifki Al-Hakiim serta keluarga besar yang senantiasa memberi doa yang tiada kunjung usai dipanjatkan untuk penulis, senantiasa memberi kasih sayang, menyemangati juga memberi dukungan berupa material ataupun moral hingga skripsi ini selesai.
7. Tim Penelitian Fungilons (Desi, Nadya dan Tasya) yang selalu berjuang bersama, bertukar pikiran, saling memberikan doa, motivasi dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat terdekat (Farrah, Andin, Silmi, Rhevita, Berliana) yang terus memberi semangat, motivasi, serta doa untuk menyusun skripsi ini.
9. Keluarga besar Formicidae 2018 yang berjuang bersama penulis sampai bisa terselesaikannya skripsi ini.
10. 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.
11. Segenap pihak yang tidak dapat penulis sebut disini, terimakasih untuk bantuannya dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis sangat sadar adanya kekurangan dari skripsi ini dan mengharap saran juga kritik dari segenap pihak. Akhirnya, semoga skripsi ini bisa memberi manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan farmasi.

Wassalamu'alaiikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Semarang , Februari 2023

Penulis

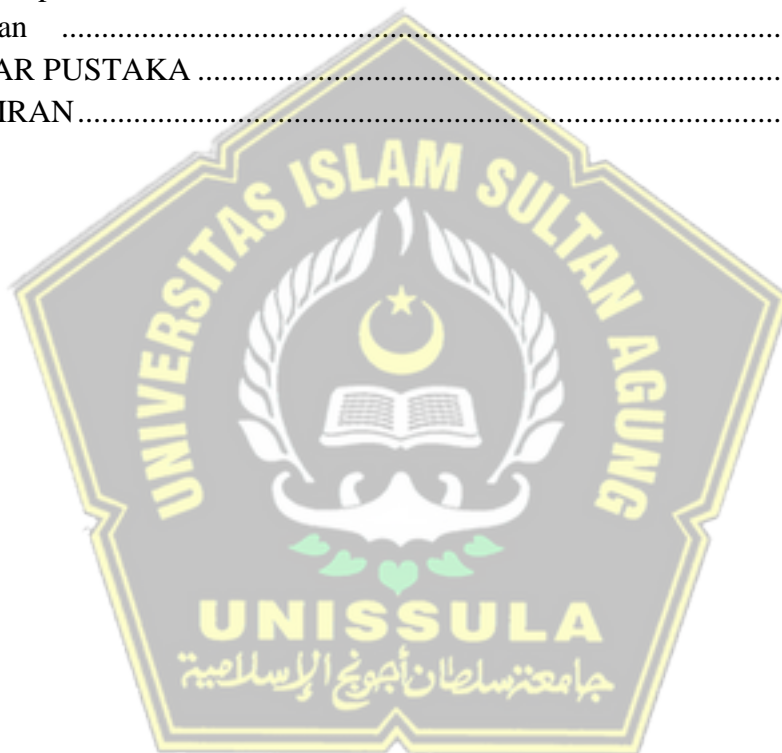
Aulia Rahmadhina Putri

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
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.....	5
2.1 Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	5
2.1.1 Klasifikasi Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	5
2.1.2 Morfologi Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	6
2.1.3 Kandungan Kimia Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	6
2.1.4 Khasiat Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	7
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	9
2.2.1 Klasifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	9
2.2.2 Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	10
2.2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri.....	10
2.3 Pertumbuhan Bakteri.....	12
2.4 Isolasi.....	13
2.5 Fermentasi.....	13
2.6 Kromatografi Lapis Tipis.....	14
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	15

2.8 Hubungan Isolat Fungi Endofit Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i> Dengan Aktivitas Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	18
2.9 Kerangka Teori.....	20
2.10 Kerangka Konsep.....	20
2.11 Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Variabel dan Definisi Operasional.....	21
3.2.1 Variabel.....	21
3.2.2 Definisi Operasional.....	21
3.3 Populasi Dan Sampel Penelitian.....	23
3.3.1 Populasi Penelitian.....	23
3.3.2 Sampel Penelitian.....	23
3.4 Instrumen Dan Bahan Penelitian.....	23
3.4.1 Instrumen Penelitian.....	23
3.4.2 Bahan Penelitian.....	24
3.5 Prosedur Penelitian.....	24
3.5.1 Determinasi Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	24
3.5.2 Pengambilan Sampel.....	25
3.5.3 Sterilisasi Alat.....	25
3.5.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis.....	26
3.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	27
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.6.1 Tempat Penelitian.....	31
3.6.2 Waktu Penelitian.....	32
3.7 Analisis Data.....	32
3.8 Alur Penelitian.....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil Penelitian.....	34
4.1.1 Determinasi Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	34
4.1.2 Isolasi Fungi Endofit.....	35
4.1.3 Analisis KLT.....	36
4.1.4 Identifikasi Bakteri.....	38
4.1.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	38
4.1.6 Analisis Data.....	39

4.2 Pembahasan.....	45
4.2.1 Determinasi Tanaman	45
4.2.2 Isolasi Fungi Endofit.....	45
4.2.3 Analisis KLT.....	46
4.2.4 Identifikasi Bakteri.....	48
4.2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	49
BAB V.....	55
PENUTUP.....	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	62



DAFTAR SINGKATAN

ATCC	: American Type Cultur Collection
μL	: Microliter
μm	: Micro meter
C	: Celcius
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
g	: Gram
mg	: Mili gram
mL	: Mili liter
UV	: Ultraviolet
CFU	: Colony Forming Unit
pH	: Potential Hydrogen
cm	: Centi meter



DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Waktu Penelitian	32
Tabel 4. 1 Hasil Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	36
Tabel 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit	37
Tabel 4. 3 Hasil uji aktivitas antibakteri tanaman alga laut	39
Tabel 4. 4 Hasil analisis dari uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	39
Tabel 4. 5 Hasil uji homogenitas <i>Levene Test</i>	40
Tabel 4. 6 Hasil uji non-parametrik Kruskal Wallis	40
Tabel 4. 7 Hasil uji Mann Whitney	41

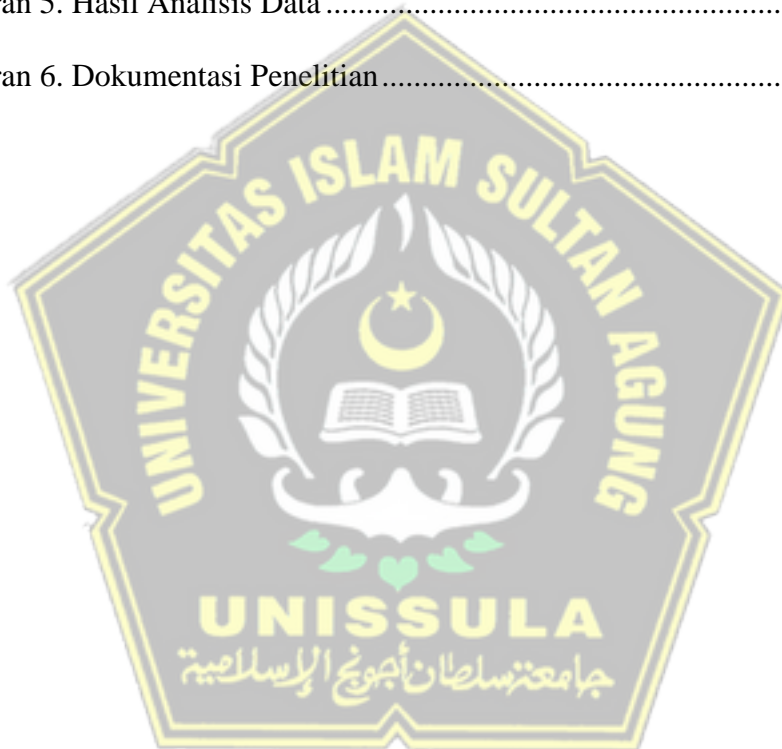


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i>	5
Gambar 2. 2 <i>Staphylococcus aureus</i> Mikroskop	9
Gambar 2. 3 Kerangka Teori.....	20
Gambar 2. 4 Kerangka Konsep	20
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	33
Gambar 4. 1 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut <i>Dichotomaria marginata</i> (A) Isolat sampel 1 (B) Isolat sampel 2 (C) Isolat sampel 3.....	35
Gambar 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit (A) Spektrofotometri UV 254 nm dan (B) Spektrofotometri UV 366 nm	37
Gambar 4. 3 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Secara (A) Makroskopis dan (B) Mikroskopis.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Pengenceran Konsentrasi Isolat	62
Lampiran 2. Ethical Clearance	64
Lampiran 3. Determinasi Tanaman.....	65
Lampiran 4. Hasil Uji Antibakteri	66
Lampiran 5. Hasil Analisis Data	69
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	127



INTISARI

Alga laut merupakan biota laut yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Penggunaan alga laut secara terus menerus akan berpengaruh pada sumberdaya yang tersedia, sehingga dapat dilakukan dengan cara mengisolasi fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* sebagai antibakteri sebab mempunyai kandungan metabolit sekunder alkaloid, fenol, terpen, polisakarida, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh fungi endofit yang diisolasi dari alga *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium memanfaatkan rancangan *post test only control group design*. Isolasi fungi endofit menggunakan metode tanam langsung, pemurnian, karakterisasi dan fermentasi. Uji antibakteri menggunakan metode sumuran pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Penelitian ini mempergunakan kontrol negatif DMSO 1%, kontrol positif siprofloksasin, dan sampel dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%.

Penelitian didapatkan hasil yaitu bahwa rata-rata diameter zona hambat ketiga sampel isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* berturut-turut dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yaitu endofit 1 ($6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,43 \pm 0,20$; $6,70 \pm 0,00$ mm), endofit 2 ($6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,70 \pm 0,00$ mm), endofit 3 ($6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,00 \pm 0,00$; $6,50 \pm 0,00$; $6,70 \pm 0,00$ mm). Hasil analisis dengan *Kruskall Wallis* dan *Mann Whitney* diperoleh hasil terdapat perbedaan bermakna antar konsentrasi.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Kata kunci : alga laut, *Dichotomaria marginata*, Isolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dengan beragam kekayaan biota laut tentu memiliki potensi untuk mengembangkan dan memanfaatkan biota lautnya, salah satunya adalah alga laut. Alga laut berbeda dengan tumbuhan yang lain karena komponen akar, batang dan daun tidak bisa dibedakan serta seluruh komponoen tumbuhan disebut thallus sehingga dikategorikan tumbuhan tingkat rendah. Alga laut selain dapat dikonsumsi juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan obat-obatan, kosmetik maupun industri makanan, salah satu contoh alga laut adalah *Dichotomaria marginata* yang termasuk alga laut merah (Djakatara et al., 2019).

Tidak sedikit jenis alga yang sebenarnya memiliki potensi untuk dikembangkan dipelajari untuk dimanfaatkan menjadi sumber obat karena mengandung berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas yang sangat luas. Terdapat 196 spesies Chlorophyta, 134 spesies Phaeophyta dan 452 spesies Rhodophyta yang hidup di perairan Indonesia, diantaranya 61 spesies alga telah digunakan sebagai sumber obat, termasuk 15 spesies Chlorophyta dan 8 spesies Phaeophyta dan 38 Rhodophyta (Winowoda et al., 2020). Alga laut yang terdiri dari berbagai jenis dan jumlah akan tetapi yang sudah diteliti masih kurang dari 5% (Djakatara et al., 2019).

Sebagai sumber senyawa bioaktif alga laut telah banyak digunakan salah satunya penelitian yang dilakukan oleh (Trianasta et al., 2021)

memanfaatkan alga *Caulerpa racemosa* yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Akan tetapi, terdapat beberapa kelemahan dengan dilakukannya eksplorasi senyawa antibakteri dari makroalga antara lain memerlukan banyak sampel alga untuk eksplorasi senyawa metabolit sekunder tersebut, yang artinya apabila alga tersebut diambil secara terus menerus akan berpengaruh pada sumberdaya yang tersedia. Selain itu, dalam pertumbuhannya alga laut yang berasal dari habitat asalnya maupun hasil pendayagunaan memerlukan waktu lebih lama. Isolasi fungi endofit dapat dijadikan alternatif sehubungan dengan potensinya dalam menghasilkan senyawa metabolit yang sejenis dengan tanaman inang dalam kurun waktu cukup singkat. Fungi endofit ini biasanya hidup pada jaringan tanaman serta membentuk suatu koloni dengan tidak membahayakan inang. Ekplorasi antibakteri fungi endofit dari alga laut *Dichotomaria marginata* asal Kabupaten Lombok Utara belum pernah dilakukan sebelumnya (Trianasta et al., 2021).

Efek biologis diperoleh dari komponen bioaktif yang terdapat pada jamur endofit seperti antibakteri, antikanker, antioksidan dan lain-lain. Antimikroba merupakan senyawa yang memodulasi pertumbuhan bakteri patogen (Murdiyah, 2017). Menurut (Panden et al., 2019) alga merah dari famili Galaxauraceae yang termasuk famili yang sama dengan alga *Dichotomaria marginata* mengandung berbagai metabolit sekunder di antaranya flavonoid, alkaloid terpen, polisakarida, saponin, halogen, lektin, fenol, lemak tak jenuh dan triterpenoid atau steroid. Namun,

diantara berbagai metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri yakni flavonoid, alkaloid, terpenoid, polisakarida, steroid, saponin, triterpenoid dan fenol. Selain itu, menurut (Yulianti & Baso Manguntungi, 2018) alga merah famili Galaxauraceae menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 80%.

Mengacu pemaparan tersebut, maka penelitian ini bertujuan melakukan uji in vitro terhadap salah satu metode uji media kultur buatan dengan menyesuaikan kondisi lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan dan reproduksi mikroorganisme pada sampel jamur endofit yang diisolasi dari alga laut *Dichotomaria marginata* yang mengandung alkaloid, flavonoid, terpen, polisakarida, fenol, saponin, triterpenoid dan steroid sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Ikrom et al., 2014)

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antibakteri fungi endofit yang diisolasi dari alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi endofit yang diisolasi dari alga *Dichotomaria marginata* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi endofit yang diisolasi dari alga *Dichotomaria marginata* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

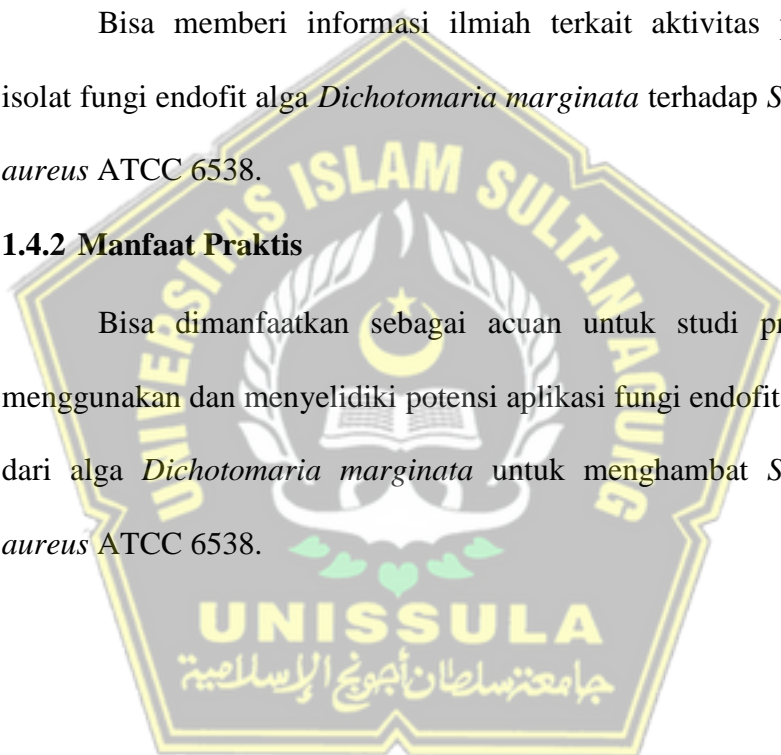
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Bisa memberi informasi ilmiah terkait aktivitas penghambatan isolat fungi endofit alga *Dichotomaria marginata* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.4.2 Manfaat Praktis

Bisa dimanfaatkan sebagai acuan untuk studi praklinis untuk menggunakan dan menyelidiki potensi aplikasi fungi endofit yang diisolasi dari alga *Dichotomaria marginata* untuk menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Gambar Alga Laut *Dichotomaria marginata* ditunjukkan sebagaimana di bawah ini:



Gambar 2. 1 Alga Laut *Dichotomaria marginata*

2.1.1 Klasifikasi Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Klasifikasi Alga Laut *Dichotomaria marginata* adalah:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Biliphyta

Divisi : Rhodophyta

SubDivisi : Eurhodophytina

Kelas : Florideophyceae

Subkelas : Nemaliophycidae

Ordo : Nemaliales

Famili : Galaxauraceae

Genus : *Dichotomaria*

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

2.1.2 Morfologi Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Alga laut merah *Dichotomaria marginata* adalah spesies alga yang termasuk dalam famili Galaxauraceae yang mempunyai ciri thallus berbentuk pipih dan bercabang, bentuknya setengah lingkaran, lebar setiap cabang 1-3 mm, rata, teksturnya halus, sedikit menebal, hampir terdapat garis horizontal samar di ujung thallus. Warnanya berkisar dari ungu hingga merah tua dan struktur dari thallus keras dan elastis. Biasanya, spesies ini tumbuh di bebatuan di daerah internidal dengan kedalaman 1-16 m (Kasanah *et al.*, 2021).

2.1.3 Kandungan Kimia Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Menurut (Panden *et al.*, 2019) alga merah dari famili Galaxauraceae mengandung berbagai metabolit sekunder di antaranya flavonoid, alkaloid, terpen, polisakarida, triterpenoid, halogen, lektin, saponin, lemak tak jenuh, fenol dan steroid.

2.1.4 Khasiat Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Menurut (Panden et al., 2019) alga merah dari famili Galaxauraceae mengandung berbagai metabolit sekunder di antaranya flavonoid, alkaloid, terpen, polisakarida, triterpenoid, halogen, lektin, saponin, lemak tak jenuh, fenol dan steroid. Dari berbagai kandungan tersebut yang memiliki potensi sebagai antibakteri adalah :

- a. Flavonoid : berperan sebagai agen antibakteri, terdapat tiga mekanisme dari flavonoid yaitu memblokir fungsi membran sel, memblokir metabolisme energi serta memblokir sintesis asam nukleat (Hasanah & Gultom, 2020). Flavonoid mengubah komposisi organik serta transportasi nutrisi yang dapat menyebabkan efek toksik pada bakteri itu yang bisa terjadi karena struktur flavonoid mengandung gugus hidroksil (Egra et al., 2019).
- b. Alkaloid : memiliki mekanisme untuk mencegah unsur pembentuk peptidoglikan pada sel bakteri karena senyawa alkaloid memiliki gugus aril kuartener dan mampu berinteraksi dengan DNA (Rahman et al., 2017).
- c. Fenol : memiliki mekanisme yang mencegah asam N-asetilmuramat yang berikatan ke dalam struktur mukopeptida sehingga mengganggu komponen peptidoglikan di dinding sel, yang secara umum menghasilkan kekakuan dinding sel, oleh karenanya mempengaruhi pembentukan dinding sel bakteri

ketika terganggunya proses sintesis. Hal ini menyebabkan hilangnya dinding sel bakteri yang resisten, sebatas membran sel yang bocor dan rentan yang tersisa (Hidayah et al., 2017).

- d. Terpen dan triterpenoid : kedua senyawa tersebut termasuk kedalam golongan senyawa terpenoid yang memiliki mekanisme protein transmembran dihancurkan karena reaksinya terhadap membran luar dinding sel bakteri guna pembentukan ikatan kuat polimer (Anggraini et al., 2019).
- e. Polisakarida : memiliki mekanisme mengubah permeabilitas membran, merusak protein membran sehingga menyebabkan kerusakan struktural lepasnya komponen sel seperti protein dan elektrolit (Wang et al., 2021).
- f. Saponin : permeabilitas dinding sel meningkat dan tegangan permukaan dinding sel berkurang, karena di dinding sel saponin bergabung dengan lipopolisakarida sehingga ketika dinding sel berinteraksi akan mengalami pembelahan dan bisa dengan mudahnya zat antibakteri masuk dalam sel sehingga menghambat proses metabolisme selama bakteri mengalami kematian (Dwicahyani et al., 2018).
- g. Steroid : membran lipid terganggu, memungkinkan kebocoran ke dalam liposom. Selain itu, dapat berikatan dengan membran fosfolipid yang permeabel terhadap senyawa yang larut dalam lemak, mengakibatkan penurunan integritas membran dan

perubahan susunan membran yang menyebabkan kerapuhan sel dan pecah (Sudarmi et al., 2017).

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Gambar *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis tersaji pada Gambar

2.2 berikut :



Gambar 2. 2 *Staphylococcus aureus* Mikroskop (Hayati et al., 2019)

2.2.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 memiliki klasifikasi

sebagaimana di bawah ini:

Kingdom : Monera
 Phylum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Lactobacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Becker et al., 2014).

2.2.2 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Staphylococcus aureus ATCC 6538 memiliki bentuk bulat yang mana yakni bakteri gram positif berwarna ungu serta sering berkelompok menyerupai buah anggur. Bakteri berdiameter 0,5 hingga 1,5 μm , tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Biasanya *Staphylococcus aureus* hidup berpasangan atau berkelompok, membelah dengan pembelahan biner dimana pembelahan sel terjadi pada tingkat yang berbeda, dengan pertumbuhan optimal terjadi pada kisaran suhu 18-40°C. Sel tersusun atas banyak lapisan, terutama lapisan peptidoglikan yang tebal dan keras (Rasheed & Hussein, 2021). *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dapat menyebabkan infeksi seperti keracunan makanan, infeksi ringan pada kulit hingga dapat menyebabkan infeksi sistemik (Herlina, 2015). Selain itu (Rahmi et al., 2015) memberikan pemaparan apabila bakteri ini adalah jenis yang sifatnya vital terkait dengan invasif, virulensi, serta resistensi antibiotik atas racun.

2.2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Penyebaran mikroorganisme seperti bakteri, kondisi lingkungan yang tepat perlu diperhatikan. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi beberapa faktor di bawah ini:

a. Kelembaban

Semua bakteri bisa dengan baik tumbuh di udara lembab dan kondisi lembab serta apabila di udara dan lingkungan yang kering

maka tidak tumbuh. Namun, di laboratorium, virus dan bakteri dapat hidup pada kondisi kering apabila dilakukan pembekuan benih dengan cepat dan dilakukan pengeringan dengan vakum.

b. Suhu

Perkembangbiakan bakteri tidak akan terjadi pada suhu rendah di bawah minimum, tetapi pada suhu tinggi bakteri akan lebih berbahaya keberadaannya jika dilakukan pemanasan melebihi suhu maksimal tersebut. Bakteri dibagi dalam tiga kelompok menurut suhu yaitu :

1. Psycrhofil, suhu pertumbuhan optimum sekitar 10°C-15°C

Contoh : *Lactobacillus*, *Pseudomonas*

2. Mesophil, suhu pertumbuhan optimum sekitar 25°C-37°C

Contoh : *Escherichia Coli*, *Streptococcus mutans*

3. Thermofil, suhu pertumbuhan optimum sekitar 50°C-60°C

Contoh : *Micrococcus luteus*, *Bacillus stearothermophilus*

c. Keasaman (pH)

Perubahan pH dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dan neutrofil pada pH kisaran 6,0 sampai 8,0 akan bisa tumbuh secara baik. Beberapa bentuk bakteri acidophilus memiliki pH yang optimum serendah 3,0, sedangkan alkaliphiles memiliki pH optimum sekitar 10,5.

d. Nutrisi

Nutrisi yang harus ada adalah donor dan akseptor hidrogen, sumber nitrogen, karbon, belerang, mineral dan fosfor. Unsur dan serta faktor pertumbuhan asam amino, purin dan vitamin.

e. Pengaruh tekanan osmotik

Protoplas bakteri mengandung zat yang terlarut, sehingga tekanan osmotiknya selalu lebih tinggi daripada air murni. Jika sel bakteri ditempatkan dalam air murni, mekanisme plasmolisis terjadi (bakteri dalam keadaan bengkak), tetapi jika bakteri berada dalam larutan hipertonik, terjadi plasmolisis (dinding sel melepaskan plasma dan membunuh bakteri) (Lestari & Triasih wahyu hartati, 2017).

2.3 Pertumbuhan Bakteri

Tahap pertumbuhan bakteri diwakili oleh kurva pertumbuhan bakteri yang berisi seluruh siklus pertumbuhan bakteri. Adapun fase pertumbuhannya antara lain fase kematian, fase stasioner, fase eksponensial (fase pertumbuhan cepat), dan fase lag (fase lambat):

- a. Fase lamban (fase lag), tahapan bakteri selama adaptasi dengan lingkungan dan media baru. Faktor yang mempengaruhi lamanya fase ini antara lain jenis bakteri, kondisi lingkungan dan kultur dalam medium.

- b. Fase pertumbuhan cepat (fase eksponensial), tahap dimana bakteri mengalami pembelahan sel yang cepat. Tahapan ini dipengaruhi suhu, pH, serta kandungan nutrisi.
- c. Fase stasioner, adalah fase dimana tidak ada peningkatan atau penurunan jumlah sel yang signifikan dan oleh karena itu laju reproduksinya nol karena jumlah sel hampir sama antara sel yang mati dan yang membelah.
- d. Fase kematian, adalah fase di mana lebih banyak sel mati dibandingkan dengan sel yang tumbuh karena berkurangnya nutrisi dalam medium (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

2.4 Isolasi

Isolasi merupakan suatu langkah awal yang penting dilakukan agar mendapat suatu biakan murni sehingga potensinya dapat ditinjau lebih lanjut. Hal penting yang harus diperhatikan dalam mengisolasi fungi endofit adalah memilih sampel tanaman yang sehat, segar, bebas dari hama serta penyakit, oleh karena itu isolasi harus segera dilakukan untuk menghindari kontaminasi oleh mikrospora melalui udara (Aqlinia et al., 2020).

2.5 Fermentasi

Fermentasi adalah proses dimana mikroorganisme tumbuh atau memetabolisme tanpa adanya oksigen untuk menghasilkan senyawa kimia. Fermentasi dalam biokimia adalah proses penghasil energi dimana komponen organik bertindak sebagai akseptor elektron. Secara umum,

tergantung pada penggunaan media, terdapat dua jenis fermentasi, yakni *solid state fermentation* (fermentasi medium padat) serta *submerged fermentation* (fermentasi medium cair). Untuk fermentasi media padat, terjadi pada substrat yang tidak terlarut tetapi memiliki kandungan cukup air jika bukan cairan. Jenis fermentasi ini lebih terkonsentrasi pada nutrisi per volume dan karenanya menghasilkan lebih banyak tiap volume. Keunggulan fermentasi media padat adalah penyiapan inokulum yang sederhana, hasil aerasi yang mudah, hasil produk yang mudah dipanen dan media yang digunakan sederhana. Sedangkan fermentasi medium cair yaitu dengan air yang dilibatkan sebagai fase kontinyu sistem pertumbuhan substrat atau sel yang dimaksud, baik sumber mineral atau karbon dalam suspensi atau terlarut dalam bentuk partikel pada fase cair. Keuntungan dari media ini adalah bahwa hampir semua bagian tangki berfermentasi, meningkatkan kontak antara reagen dan bakteri, tetapi kerugian dari media ini adalah relatif mahal untuk dioperasikan (Kristiandi et al., 2021).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis

Pelaksanaan kromatografi lapis tipis sebagai upaya dalam mengidentifikasi senyawa pada tanaman selain skrining fitokimia. Ini merupakan metode pemisahan fisika-kimia berdasarkan perbedaan distribusi molekul penyusun antara fase diam atau adsorben seta fase elusi atau gerak dari berbagai polaritas. Hasil yang diperoleh dengan menggunakan analisis KLT adalah nilai R_f dan warna noda yang

memberikan identifikasi senyawa yang ditemukan pada tanaman (Forestryana & Arnida, 2020).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Pelaksanaan uji aktivitas antimikroba ditujukan untuk memperoleh sistem pengobatan yang efisien dan efektif. Uji ini dengan mengadakan pengukuran terhadap zona hambat pertumbuhan mikroorganisme melawan agen antimikroba. Berikut adalah berbagai jenis uji antibakteri antara lain :

1. Metode Difusi, merupakan metode dengan prinsip kerja di dalam media padat yang berisi bakteri uji yang telah diinokulasikan senyawa antibakteri akan berdifusi. Macam-macam metode difusi antara lain :

a. Difusi Cakram (disk)

Prosedur dalam metode ini dengan melakukan penjuhan paper disk pada bahan uji sebagai media untuk menyerap zat antimikroba. Inokulasi media agar dengan biakan mikroorganisme yang akan diuji selanjutnya ditempatkan pada paper disk, diikuti dengan inkubasi pada temperatur 37°C selama 18 sampai 24 jam. Area bening muncul disekitar disk menunjukkan penghambatan pertumbuhan mikroba terhadap agen antibakteri. Kelebihan dari metode ini adalah dapat diuji lebih cepat pada sediaan disk.

b. Sumuran

(Nurhayati et al., 2020) memberikan pemaparan bahwa prosedur dalam metode ini dengan menginokulasikan media agar menggunakan bakteri uji kemudian membuat lubang yang dibuat tegak lurus selanjutnya setiap sumuran diisi dengan sampel yang akan diuji. Inkubasi dengan temperatur 37°C selama 18-24 jam. Amati pertumbuhan bakteri untuk melihat apakah di sekeliling lubang terdapat daerah hambatan atau tidak. Metode ini mempunyai kekuatan yakni relatif tidak sulit diukurnya luas zona hambat, sebab bakteri bergerak bukan sebatas pada permukaan atas agar nutrisi saja, namun pula ke bawah. Sedangkan kekurangannya kemungkinan besar di sekitar area lubang agar retak atau pecah sehingga peresapan antibiotik kedalam media yang akan berpengaruh terhadap pembentukan diameter zona bening ketika mengadakan uji kepekaan dapat terganggu.

2. Metode Dilusi merupakan metode untuk menilai aktivitas suatu senyawa terhadap bakteri dengan cara memeriksa konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh pada batas terendah.

Metode dilusi memiliki beberapa macam antara lain :

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

Penggunaan metode ini yaitu dalam mengukur konsentrasi bunuh minimum (MBC) dan konsentrasi hambat minimum (MIC). Dalam metode ini encerkan agen antibakteri dalam beberapa seri pada media cair yang telah ditambah bakteri uji. MIC ditentukan

oleh konsentrasi minimum antimikroba yang dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri yang diuji. Selanjutnya melakukan rekultur dalam media cair dengan tidak adanya penambahan agen antibakteri atau bakteri uji, dilanjutkan dengan inkubasi dalam waktu 18 sampai 24 jam. Bila sesudah inkubasi media cair tetap jernih, ini dapat didefinisikan dengan MBC.

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

Cara ini mirip cara dilusi cair, hanya saja berbeda media yang digunakan yaitu media padat. Sebelum dilakukan proses inkubasi, masing-masing konsentrasi obat dicampur dengan media agar dan ditumbuhkan bakteri pada media tersebut. Kelebihan dari metode ini adalah hanya sejumlah kecil bakteri uji yang dapat diuji menggunakan hanya satu konsentrasi antimikroba (Tarigan, 2021).

Pengukuran zona bening yang terbentuk bisa digunakan dalam mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri. Menurut (Susanto et al., 2012) dalam (Winastri et al., 2020) apabila terjadi pada diameter sejumlah ≤ 5 mm maka berdaya hambat lemah; untuk diameter kisaran 6-10 mm termasuk kategori sedang; untuk diameter kisaran 11-20 mm termasuk kategori kuat serta untuk diameter dengan nilai ≥ 21 mm yaitu berkategori sangat kuat.

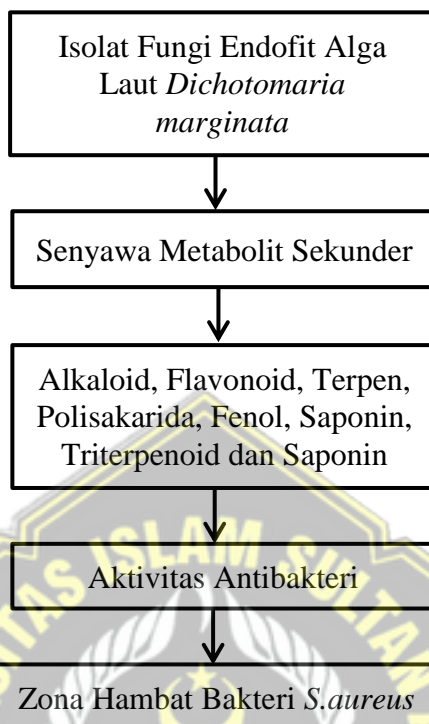
2.8 Hubungan Isolat Fungi Endofit Alga Laut *Dichotomaria marginata* Dengan Aktivitas Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Isolat jamur endofit dari alga *Dichotomaria marginata* dimana alga tersebut termasuk kedalam salah satu jenis alga yang berasal dari famili Galaxauraceae mengandung senyawa bioaktif sebagai antibakteri, di antaranya saponin, alkaloid, terpen, polisakarida, flavonoid, fenol, karotenoid, steroid dan triterpenoid (Panden et al., 2019). (Rahman et al., 2017) memberikan pemaparan bahwa alkaloid memiliki mekanisme sebagai antibakteri untuk mencegah unsur pembentuk peptidoglikan pada sel bakteri karena senyawa alkaloid memiliki gugus aril kuartener dan mampu berinteraksi dengan DNA. Terdapat tiga mekanisme flavonoid sebagai agen antibakteri yaitu memblokir fungsi membran sel, memblokir metabolisme energi serta memblokir sintesis asam nukleat. Flavonoid mengubah komposisi organik serta transportasi nutrisi yang dapat menyebabkan efek toksik pada bakteri itu yang bisa terjadi karena struktur flavonoid mengandung gugus hidroksil (Egra et al., 2019)(Hasanah & Gultom, 2020), sedangkan fenol memiliki mekanisme yang mencegah asam N-asetilmuramat yang berikatan ke dalam struktur mukopeptida sehingga mengganggu komponen peptidoglikan di dinding sel, yang secara umum menghasilkan kekakuan dinding sel, oleh karenanya mempengaruhi pembentukan dinding sel bakteri ketika terganggunya proses sintesis. Hal ini menyebabkan hilangnya dinding sel bakteri yang resisten, sebatas membran sel yang bocor dan rentan yang tersisa (Hidayah et al., 2017).

Mekanisme terpen dan triterpenoid yang termasuk kedalam golongan senyawa terpenoid memiliki mekanisme protein transmembran dihancurkan karena reaksinya terhadap membran luar dinding sel bakteri guna pembentukan ikatan kuat polimer (Anggraini et al., 2019). Polisakarida memiliki mekanisme mengubah permeabilitas membran, merusak protein membran sehingga menyebabkan kerusakan struktural lepasnya komponen sel seperti protein dan elektrolit (Wang et al., 2021).

Sebagai antibakteri, saponin mempunyai mekanisme permeabilitas dinding sel meningkat dan permukaan dinding sel memiliki tegangan yang berkurang, karena di dinding sel saponin bergabung dengan lipopolisakarida sehingga ketika dinding sel berinteraksi akan mengalami pembelahan dan bisa dengan mudahnya zat antibakteri masuk dalam sel sehingga menghambat proses metabolisme selama bakteri mengalami kematian (Dwicahyani et al., 2018). Sedangkan steroid dengan cara membran lipid terganggu, memungkinkan kebocoran ke dalam liposom. Selain itu, dapat berikatan dengan membran fosfolipid yang permeabel terhadap senyawa yang larut dalam lemak, mengakibatkan penurunan integritas membran dan perubahan susunan membran yang menyebabkan kerapuhan sel dan pecah (Sudarmi et al., 2017).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2. 3 Kerangka Teori

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2. 4 Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

Isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki aktivitas terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 secara in vitro.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *post test only control group design* untuk pelaksanaan penelitian ini.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel Bebas

Isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata*.

3.2.1.2 Variabel Terikat

Aktivitas isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan mengukur diameter zona bening bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

3.2.1.3 Variabel Kontrol

Suhu, pH, konsentrasi isolat fungi endofit, konsentrasi kontrol positif, pelarut, penimbangan, tebal media, diameter cawan petri dan volume bakteri.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Isolat Fungi Endofit Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Isolat merupakan zat yang dihasilkan dari proses isolasi bahan secara kimiawi. Alga laut *Dichotomaria*

marginata didapatkan dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara. Isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* diperoleh melalui proses isolasi yang dilakukan diatas media PDAC (*Potato Dextrose Agar Chloramphenicole*) yang dapat menumbuhkan fungi dengan cepat sehingga fungi yang masih berada didalam sel jaringan dapat keluar. Setelah fungi endofit dengan karakteristik yang berbeda tumbuh pada media kemudian dilakukan pemurnian di cawan petri yang berisi media MEA (*Malt Extract Agar*) yang dapat menumbuhkan miselium dalam jumlah yang banyak, kemudian strain murni yang telah tumbuh di karakterisasi secara makroskopis ataupun mikroskopis. Tahap selanjutnya dilakukan fermentasi pada media *Solid Rice Medium* (Media Beras Padat) didalam labu erlenmeyer hingga miselia dari fungi endofit tumbuh disekitar media. Skala rasio dipergunakan pada penelitian ini.

3.2.2.2 Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Prosedur uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk memastikan kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri serta penemuan senyawa murni dengan efek antibakteri.

Upaya dalam mengetahui daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 di antaranya adalah uji *agar well diffusion assay*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri digunakan sebagai parameter aktivitas antibakteri serta dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong pada skala rasio dalam satuan milimeter (mm). Parameter yang sesuai apabila terdapat zona bening di sekitar sumuran > 6 mm (Wahyuni et al., 2019).

3.3 Populasi Dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yang dibiakkan di laboratorium Mikrobiologi FK UNISSULA ditetapkan untuk populasi penelitian ini.

3.3.2 Sampel Penelitian

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 sebanyak 1 ose ditanam pada 10 mL media cair BHI (*Brain Heart Infusion*) dalam tabung. Kepekatan bakteri disesuaikan dengan standard *McFarland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

3.4 Instrumen Dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen Penelitian

Autoklaf (All American), oven, timbangan elektrik gram dan miligram (OSUKA), aluminium foil (total wrap), pinset, bunsen (Luca's), batang pengaduk pipet tetes, spatel, corong, gelas beker, erlenmeyer, labu

ukur, gelas ukur, vial, pipet ukur (pyrex), termometer, *laminar air flow* (Lab Tech), cawan petri, tisu, steril, ose steril, mikroskop, kaca preparat, cover glass, kertas saring, gelas chamber, pipa kapiler, kertas penjumlahan, spektrofotometri UV-Vis, alat tulis, *Biological Safety Cabinet*, tabung reaksi, *cotton swab steril*, tabung durham, mikropipet (Vitlab, Lambda), mikrotip (Axygen), jangka sorong (Tricle Brand).

3.4.2 Bahan Penelitian

Alga laut *Dichotomaria marginata*, Aquadest, media MHA (*Mueller Hinton Agar*), Alkohol, Aquadest steril, methylen blue, silica gel, kloroform, media BHI (*Brain Heart Infusion*), media MSA (*Mannitol Salt Agar*), *Crystal Violet*, *lugol*, etanol 96%, safranin, emersi, Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, NaCl, larutan standar *Mc.Farland*, DMSO, Siprofloksasin murni.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Tujuan identifikasi botani dalam rangka memperoleh identitas sebenarnya dari tanaman yang diteliti. Determinasi ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Mataram dengan cara melihat kunci determinasi yang berisi ciri khas takson dari tanaman. Kemudian susun ciri-ciri tersebut sedemikian rupa menggunakan kunci determinasi, setelah itu pilih satu sifat yang sesuai dengan ciri tumbuhan yang diinginkan, lakukan langkah tersebut seterusnya hingga diperoleh jawaban berupa identitas tanaman.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Isolat fungi endofit didapatkan dari hasil isolasi alga laut *Dichotomaria marginata*. Sampel yang digunakan diambil dari alga laut *Dichotomaria marginata* yang diperoleh dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara pada bagian zona internidal dengan kedalaman 1 m. Zona dalam atau zona internidal terletak di batas ekosistem pesisir dan laut, di tepi ekosistem darat pada kedalaman sekitar 0 sampai 60 m. Sampel tanaman alga laut yang diambil adalah sampel yang sehat, untuk menjaga sampel agar tetap segar dan tidak terkontaminasi maka dimasukkan dalam zipper bag atau dapat disimpan dalam cool box. Untuk proses sterilisasi penanganan dilakukan di laboratorium selanjutnya dilakukan tahap isolasi (Dewi et al., 2020).

3.5.3 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan untuk menjaga kebersihan agar peralatan terbebas dari mikroorganisme berbahaya sehingga terhindar dari kontaminasi. Alat-alat berbahan gelas direndam dan dicuci dengan detergen hingga bersih kemudian dilakukan pembungkusan menggunakan kertas serta dilakukan sterilisasi selama 2 jam dalam oven bersuhu 180°C. Untuk alat gelas yang memiliki skala, berbahan plastik dan tidak tahan pemanasan, proses sterilisasi dilakukan secara autoklaf bertekanan 2 atm serta bersuhu 121°C dalam waktu 15 menit. Sterilisasi ose dengan dilakukan pemijaran diatas api bunsen yang menyala (Pane, 2013).

3.5.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Analisis dengan menggunakan KLT diawali dengan menyiapkan fase diam berupa silica gel G₆₀ F₂₅₄ panjang 10 cm, lebar 4 cm dengan 0,3 cm untuk batas atas serta 0,5 cm untuk batas bawah, kemudian dilakukan aktivasi dalam oven dalam waktu 10 menit bersuhu 100°C (Yuda et al., 2017), selanjutnya membuat eluen kloroform : methanol dengan perbandingan 9:1 dalam 15 mL. Cara pembuatannya dengan dimasukkan ke dalam gelas chamber 13,5 mL kloroform dan 1,5 mL methanol, kemudian tunggu hingga eluen jenuh. Setelah itu, isolat fungi endofit ditotolkan secara bersamaan pada plat KLT yang telah diaktifkan, kemudian dielusikan dengan eluen yang telah jenuh di dalam gelas chamber. Apabila telah terelusi hingga batas atas, dikeluarkannya plat KLT dari chamber serta dilakukan pengeringan. Dilakukan pengamatan terhadap noda yang muncul baik itu secara langsung dan dibawah 254 nm dan 366 nm panjang gelombang sinar UV (Hasiani, 2015), selanjutnya nilai R_f dihitung, dimana nilai R_f standar masing-masing untuk senyawa Alkaloid 0,07-0,62 (Wullur et al., 2012); Flavonoid dengan baku pembanding kuersetin 0,69-0,81 (Ferdinan & Sri Rizki, 2021); Saponin dengan baku pembanding sapogenin 0,62 (Sopianti, 2018); Fenol 0,81 (Ramadhan et al., 2021); Steroid dengan baku pembanding β-sitosterol 0,66 (Sopianti, 2018).

3.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan 1 ose *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yang diambil dan ditanam pada 10 mL media cair BHI (*Brain Heart Infusion*) dalam tabung. Suspensi selanjutnya dilakukan inkubasi dalam waktu 24 jam bersuhu 37°C. Siapkan tabung reaksi berisikan larutan NaCl 2 mL, lalu ambil 1 ose suspensi bakteri masukkan ke tabung reaksi. Homogenkan sampai didapat kekeruhan sesuai larutan standar *Mc.Farland* (Hasan Basri et al., 2021).

b. Identifikasi Bakteri

Pelaksanaan identifikasi bakteri bisa melalui beberapa cara seperti mengamati secara makroskopik dan mikroskopik dimana secara makroskopik memiliki warna kuning keemasan, bentuk koloni bulat, permukaan cembung, dan pada bagian tepi rata. Caranya dengan mengambil bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 kemudian disuspensikan ke media BHI (*Brain Heart Infusion*), lalu inkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Setelah diinkubasi, diambil 1 ose suspensi bakteri untuk ditanam diatas media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Inkubasi kembali dalam waktu 24 jam dalam temperatur 37°C (Hajar et al., 2018). Selanjutnya, untuk identifikasi secara mikroskopik dilakukan Pewarnaan Gram dalam rangka mengetahui morfologi bakteri dan

sifat gram. Caranya dengan menggosokkan 1 ose suspensi bakteri diatas object glass lalu fikasi diatas bunsen yang bertujuan untuk membunuh bakteri dan merekatkan bakteri. Setelah itu tetesi *crystal violet* kemudian diamkan dalam waktu 1 menit. Buang sisa zat warna, bilas mempergunakan aquadest. Tetesi kembali dengan larutan *lugol* seluruh preparat sebagai penegas, biarkan selama 1 menit. Buang larutan *lugol*, bilas dengan aquadest. Dengan alkoholol 96% lunturkan preparat hingga luntur seluruh zat warnanya serta cuci segera menggunakan aquadest. Zat warna safranin ditetaskan sebagai cat penentu pada preparat, diamkan dalam waktu 2 menit kemudian bilaslah mempergunakan aquadest, berikutnya tunggu hingga mengerti. Amatilah dibawah mikroskop dalam perbesaran 1000x preparat yang telah diberi 1 tetes emersi. Positif *Staphylococcus aureus* apabila hasil pewarnaan tersebut berwarna ungu dan berbentuk bulat menggerombol (Hayati et al., 2019).

c. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan DMSO murni 1% tanpa perlakuan digunakan sebagai kontrol negatif. DMSO 1% dipilih sebagai kontrol negatif karena hampir semua senyawa polar ataupun nonpolar bisa larut pada larutan ini.

d. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan sediaan Siprofloksasin murni. Larutan dibuat dalam labu erlenmeyer dengan cara melarutkan dengan 50 mL aquadest steril Siprofloksasin murni sebanyak 50 mg, kemudian dihomogenkan. Setelah itu, 1 mL larutan Siprofloksasin diambil serta tambahkan aquadest steril sampai 10 mL guna mendapatkan larutan Siprofloksasin dengan konsentrasi 50µl/5µg (Panden et al., 2019)(Putri et al., 2020).

e. Pembuatan Konsentrasi Isolat Fungi Endofit

Isolat fungi endofit yang diperoleh dilakukan pengenceran melalui rumus :

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

Keterangan :

V_1 : Volume sebelum pengenceran

M_1 : Konsentrasi sebelum pengenceran

V_2 : Volume setelah pengenceran

M_2 : Konsentrasi setelah pengenceran

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

Proses pembuatan media MHA yang digunakan untuk uji antibakteri dengan melarutkan 19 g media MHA dalam erlenmeyer yang berisi 500 mL aquadest, lalu panaskan hingga larutan homogen. Kemudian sterilkan media tersebut dalam autoklaf dalam waktu 20 menit bersuhu 121°C. Selanjutnya diamkan media hingga memadat pada suhu kamar. Simpan media pada suhu 4°C atau dalam lemari pendingin (Utomo et al., 2018).

g. Pengujian Terhadap Bakteri

Pelaksanaan uji aktivitas pertumbuhan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 mempergunakan metode uji *agar well diffusion assay* yang dipilih karena memiliki kelebihan dibanding metode lain, antara lain dalam pengukuran zona hambatnya cenderung relatif mudah, sebab bakteri bukan sebatas beraktivitas pada permukaan atas agar nutrisi saja, namun pula bergerak kebawah. Caranya dengan menggoreskan secara rapat

suspensi bakteri dengan *cotton swab steril* diatas media MHA (*Mueller Hinton Agar*). Selanjutnya, buat 3 lubang sumuran pada media dengan diameter 6 mm menggunakan tabung durham yang kemudian tiap lubang diisi 3 kali replikasi larutan kontrol positif (Siprofloksasin), larutan kontrol negatif (DMSO) serta sampel isolat fungi endofit konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, serta 20% tiap sumuran sejumlah 0,5 μ L. Kemudian diinkubasi dalam waktu 24 jam bersuhu 37°C. Penghambatan pertumbuhan bakteri dilihat dari ukuran zona bening di kisaran sumuran, apabila berukuran > 6 mm maka telah sesuai dengan parameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam uji aktivitas antibakteri (Nurhamidin et al., 2021)(Wahyuni et al., 2019).

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

3.6.1 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian di Laboratorium Farmasi Unissula, Laboratorium Mikrobiologi Unissula dan Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Mataram.

3.6.2 Waktu Penelitian

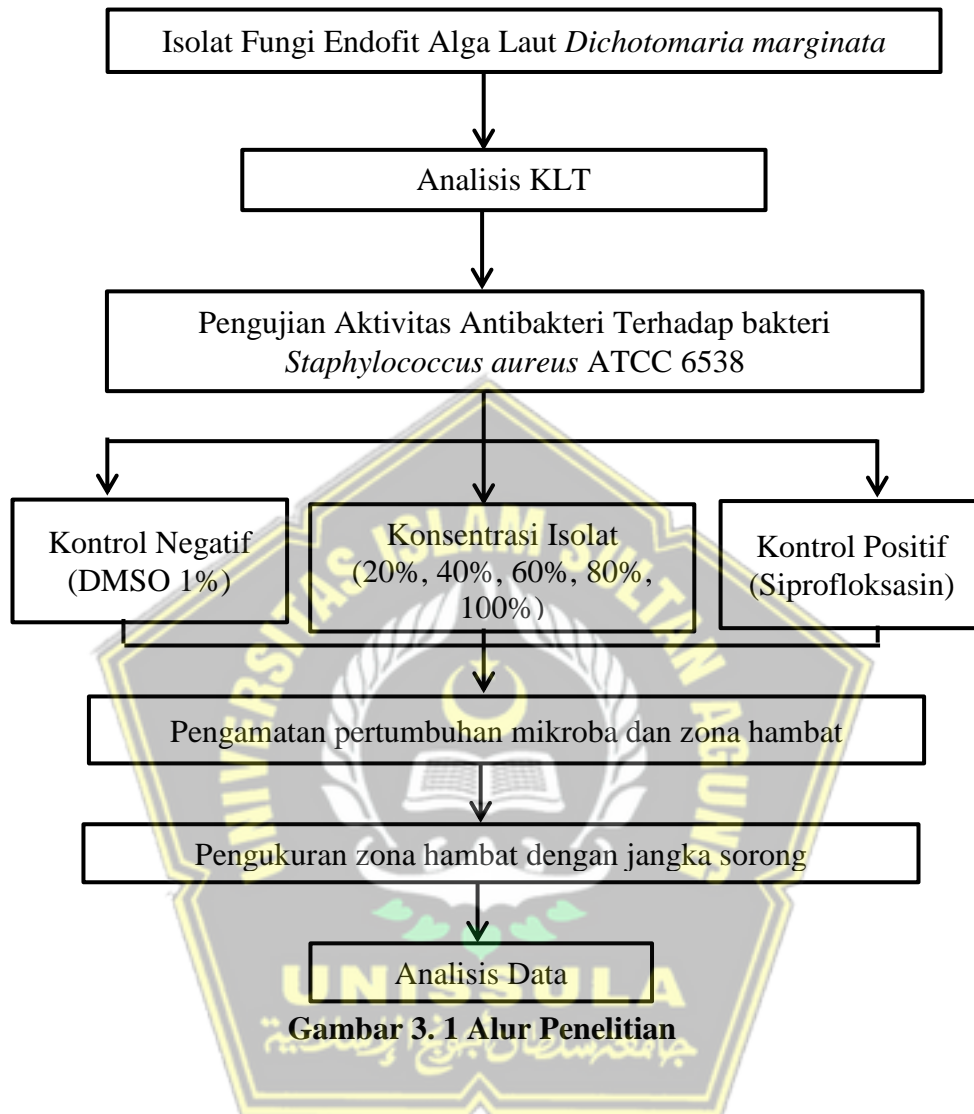
Tabel 3. 1 Waktu Penelitian

No.	Jenis Kegiatan	Waktu					
		Agst 2022	Sep 2022	Okt 2022	Nov 2022	Des 2022	Jan 2023
1.	Penyiapan sampel & pembuatan proposal	■	■				
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

Analisis statistik digunakan untuk analisis terhadap data hasil daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji normalitas menggunakan uji *shapiro wilk*, sedangkan *levane test* digunakan untuk uji homogenitas. Setelah dilakukan analisis, didapatkan data tidak homogen serta tidak berdistribusi normal maka dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Pelaksanaan penelitian bertempat Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNISSULA dan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran UNISSULA serta Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Mataram pada September 2022 – Januari 2023. Pelaksanaan penelitian ditujukan dalam rangka mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Tahapan dari penelitian ini, antara lain : determinasi alga laut *Dichotomaria marginata*, isolasi fungi endofit, pemurnian fungi endofit, karakterisasi fungi endofit, fermentasi fungi endofit, analisis KLT, uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan analisis data.

4.1.1 Determinasi Alga Laut *Dichotomaria marginata*

Determinasi alga laut *Dichotomaria marginata* dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Muhammadiyah Mataram. Berikut ini hasil determinasi alga yang diperoleh, tertuang pada (Lampiran 3).

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Biliphyta

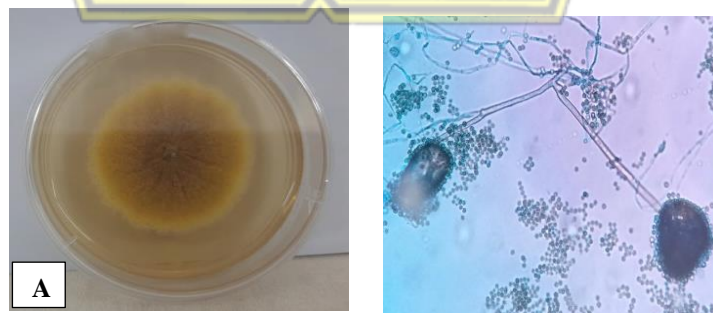
Divisi : Rhodophyta

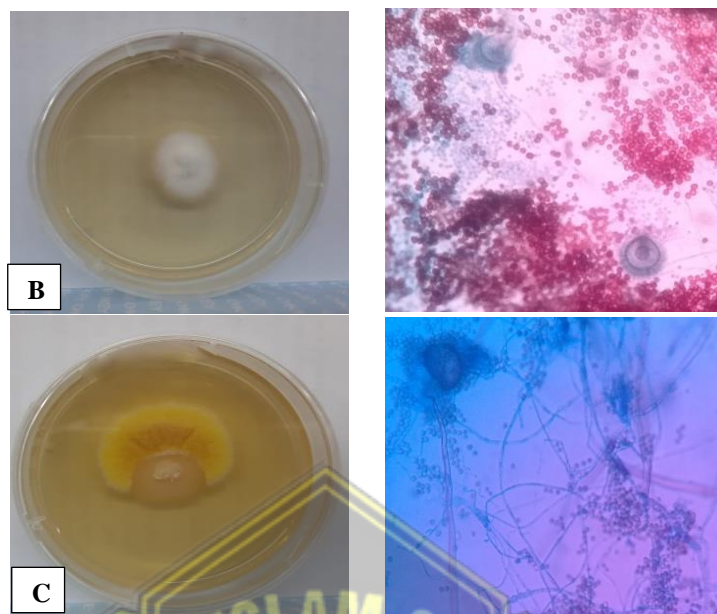
Subdivisi : Eurhodophytina

Kelas : Florideophyceae
Subkelas : Nemaliophycidae
Ordo : Nemaliales
Famili : Galaxauraceae
Genus : *Dichotomaria*
Spesies : *Dichotomaria marginata*

4.1.2 Isolasi Fungi Endofit

Proses isolasi dari bagian hifa tanaman alga laut *Dichotomaria marginata* berhasil diperoleh 3 isolat fungi endofit murni berlandaskan penelitian sebelumnya dari (Safwan et al., 2022). Perolehan isolat fungi endofit tersebut dari alga laut *Dichotomaria marginata* yang berasal dari pantai Nipah, Kabupaten Lombok Utara. Hasil ketiga isolat fungi endofit tersebut memiliki morfologi yang berbeda, untuk itu dilakukan pengamatan karakteristiknya baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik tersaji pada gambar 4.1 berikut :





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

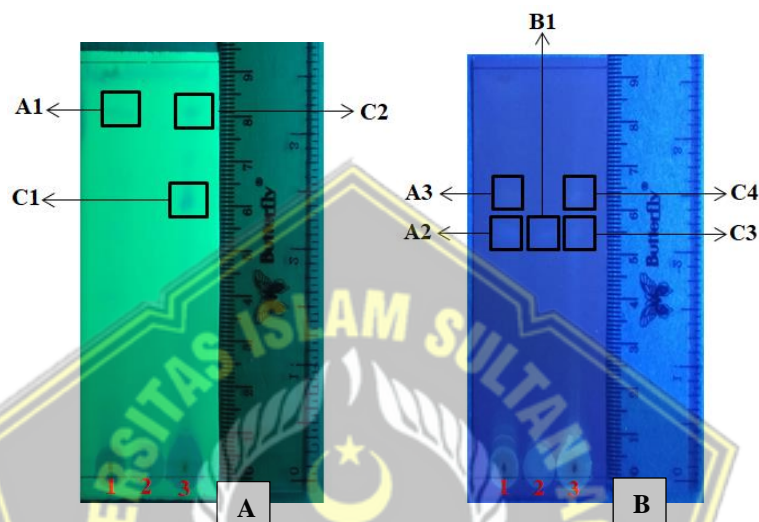
Tabel 4. 1 Hasil Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Tanaman Alga Laut *Dichotomaria marginata*

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

4.1.3 Analisis KLT

Analisis Kromatografi Lapis Tipis pada uji pendahuluan bertujuan dalam rangka melihat kandungan senyawa metabolit sekunder pada isolat fungi endofit berdasarkan nilai RF senyawa hasil KLT.

Penggunaan fase diam yaitu silica gel G₆₀ F₂₅₄ berukuran 10 cm x 4 cm, sementara fase gerak dalam KLT ini menggunakan kloroform : metanol dengan perbandingan 9:1. Analisis Kromatografi Lapis Tipis dalam isolat fungi endofit tersaji pada gambar 4.2 berikut:



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

Keterangan Gambar :

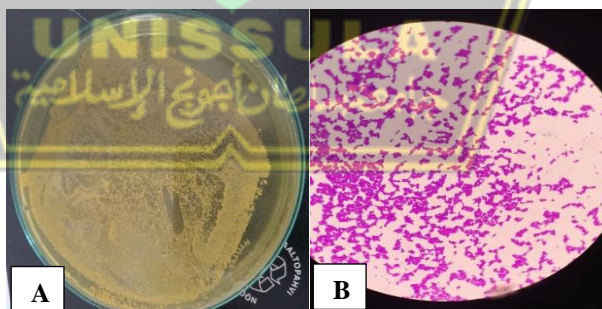
- 1 : Endofit 1
- 2 : Endofit 2
- 3 : Endofit 3

Tabel 4. 2 Hasil Analisis KLT Isolat Fungi Endofit

UV 254 nm			UV 366 nm		
Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf
A1	Kuning-coklat	0,8695	A2	Biru kehijauan	0,5978
C1	Biru tua	0,6521	A3	Jingga	0,6521
C2	Hitam	0,8695	B1	Biru kehijauan	0,5978
			C3	Biru kehijauan	0,5978
			C4	Jingga	0,6521

4.1.4 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 melalui pengamatan secara mikroskopis dan makroskopis. Sampel bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dilakukan suspensi di dalam tabung yang berisikan media cair *Brain Heart Infusion* (BHI) yang mampu menumbuhkan semua jenis bakteri. Setelah itu ditanam di atas media MSA (*Mannitol Salt Agar*). Pengamatan secara makroskopis diperoleh koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 berwarna kuning keemasan dengan penampakan bulat permukaan cembung, dan rata pada bagian tepi. Selanjutnya untuk mengetahui golongan bakteri dilakukan pengamatan secara mikroskopis melalui pewarnaan gram yang didapatkan koloni dengan warna ungu dan berbentuk bulat menggerombol. Hasil identifikasi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis tersaji pada gambar 4.3 berikut :



Gambar 4. 3 Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara (A) Makroskopis dan (B) Mikroskopis

4.1.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FK UNISSULA dengan menggunakan metode

uji *agar well diffusion assay* dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, serta 20% diperoleh hasil sebagaimana di bawah ini (Lampiran 4).

Tabel 4. 3 Hasil uji aktivitas antibakteri tanaman alga laut

Dichotomaria marginata

Kelompok	Rata-rata Zona Hambat ± SD (mm)
Endofit 1 20%	0,00 ± 0,00
Endofit 1 40%	0,00 ± 0,00
Endofit 1 60%	0,00 ± 0,00
Endofit 1 80%	6,43 ± 0,20
Endofit 1 100%	6,70 ± 0,00
Endofit 2 20%	0,00 ± 0,00
Endofit 2 40%	0,00 ± 0,00
Endofit 2 60%	0,00 ± 0,00
Endofit 2 80%	0,00 ± 0,00
Endofit 2 100%	6,70 ± 0,00
Endofit 3 20%	0,00 ± 0,00
Endofit 3 40%	0,00 ± 0,00
Endofit 3 60%	0,00 ± 0,00
Endofit 3 80%	6,50 ± 0,00
Endofit 3 100%	6,70 ± 0,00
Kontrol Positif	33,00 ± 1,73
Kontrol Negatif	0,00 ± 0,00

4.1.6 Analisis Data

Data hasil rerata pertumbuhan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 diuji normalitas mempergunakan uji *Shapiro-wilk* diperoleh signifikansi dengan nilai $< 0,05$ dimana data menghasilkan distribusi tidak normal tersaji di bawah ini (Lampiran 5).

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

Zona Hambat	Kelompok	Nilai p	Keterangan
	Endofit 1 20%	0,000	Tidak Normal
	Endofit 1 40%	0,000	Tidak Normal
	Endofit 1 60%	0,000	Tidak Normal
	Endofit 1 80%	0,463	Distribusi

		Normal
Endofit 1 100%	0,000	Tidak Normal
Endofit 2 20%	0,000	Tidak Normal
Endofit 2 40%	0,000	Tidak Normal
Endofit 2 60%	0,000	Tidak Normal
Endofit 2 80%	0,000	Tidak Normal
Endofit 2 100%	0,000	Tidak Normal
Endofit 3 20%	0,000	Tidak Normal
Endofit 3 40%	0,000	Tidak Normal
Endofit 3 60%	0,000	Tidak Normal
Endofit 3 80%	0,000	Tidak Normal
Endofit 3 100%	0,000	Tidak Normal
Kontrol Positif (Siprofloksasin)	0,000	Tidak Normal
Kontrol Negatif (DMSO)	0,000	Tidak Normal

Uji homogenitas adalah langkah berikutnya. Pengujian ini menggunakan *Levene Test* tersaji dalam table 4.5 (Lampiran 5).

Tabel 4. 5 Hasil uji homogenitas *Levene Test*

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

Dari hasil di atas bisa dilihat uji homogenitas menggunakan uji *Levene Test* didapatkan perbedaan varian data atau tidak homogen yang memiliki signifikansi dengan nilai $< 0,05$. Karena signifikansi tersebut di bawah 0,05, maka dilanjut dengan uji *Kruskal Wallis*, yang disajikan di bawah ini (Lampiran 5).

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

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

Hasil tersebut didapatkan p senilai $< 0,05$ yang bermakna data tersebut terdapat perbedaan bermakna. Untuk mengetahui perbedaan

antara konsentrasi digunakan uji *Mann Whitney* tersaji di bawah ini (Lampiran 5).

Tabel 4. 7 Hasil uji Mann Whitney

Kelompok	P	Keterangan
1 dan 2	1,000	Tidak signifikan
1 dan 3	1,000	Tidak signifikan
1 dan 4	0,037	Signifikan
1 dan 5	0,025	Signifikan
1 dan 6	1,000	Tidak signifikan
1 dan 7	1,000	Tidak signifikan
1 dan 8	1,000	Tidak signifikan
1 dan 9	1,000	Tidak signifikan
1 dan 10	0,025	Signifikan
1 dan 11	1,000	Tidak signifikan
1 dan 12	1,000	Tidak signifikan
1 dan 13	1,000	Tidak signifikan
1 dan 14	0,025	Signifikan
1 dan 15	0,025	Signifikan
1 dan 16	0,034	Signifikan
1 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 3	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 4	0,037	Signifikan
2 dan 5	0,025	Signifikan
2 dan 6	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 7	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 8	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 9	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 10	0,025	Signifikan
2 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
2 dan 14	0,025	Signifikan
2 dan 15	0,025	Signifikan
2 dan 16	0,034	Signifiksn
2 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 4	0,037	Signifikan
3 dan 5	0,025	Signifikan
3 dan 6	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 7	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 8	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 9	1,000	Tidak Signifikan

3 dan 10	0,025	Signifikan
3 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
3 dan 14	0,025	Signifikan
3 dan 15	0,025	Signifikan
3 dan 16	0,034	Signifikan
3 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
4 dan 5	0,037	Signifikan
4 dan 6	0,037	Signifikan
4 dan 7	0,037	Signifikan
4 dan 8	0,037	Signifikan
4 dan 9	0,037	Signifikan
4 dan 10	0,037	Signifikan
4 dan 11	0,037	Signifikan
4 dan 12	0,037	Signifikan
4 dan 13	0,037	Signifikan
4 dan 14	1,000	Tidak Signifikan
4 dan 15	0,037	Signifikan
4 dan 16	0,046	Signifikan
4 dan 17	0,037	Signifikan
5 dan 6	0,025	Signifikan
5 dan 7	0,025	Signifikan
5 dan 8	0,025	Signifikan
5 dan 9	0,025	Signifikan
5 dan 10	1,000	Tidak Signifikan
5 dan 11	0,025	Signifikan
5 dan 12	0,025	Signifikan
5 dan 13	0,025	Signifikan
5 dan 14	0,025	Signifikan
5 dan 15	1,000	Tidak Signifikan
5 dan 16	0,034	Signifikan
5 dan 17	0,025	Signifikan
6 dan 7	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 8	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 9	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 10	0,025	Signifikan
6 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
6 dan 14	0,025	Signifikan
6 dan 15	0,025	Signifikan
6 dan 16	0,034	Signifikan
6 dan 17	1,000	Tidak Signifikan

7 dan 8	1,000	Tidak Signifikan
7 dan 9	1,000	Tidak Signifikan
7 dan 10	0,025	Signifikan
7 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
7 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
7 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
7 dan 14	0,025	Signifikan
7 dan 15	0,025	Signifikan
7 dan 16	0,034	Signifikan
7 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
8 dan 9	1,000	Tidak Signifikan
8 dan 10	0,025	Signifikan
8 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
8 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
8 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
8 dan 14	0,025	Signifikan
8 dan 15	0,025	Signifikan
8 dan 16	0,034	Signifikan
8 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
9 dan 10	0,025	Signifikan
9 dan 11	1,000	Tidak Signifikan
9 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
9 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
9 dan 14	0,025	Signifikan
9 dan 15	0,025	Signifikan
9 dan 16	0,034	Signifikan
9 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
10 dan 11	0,025	Signifikan
10 dan 12	0,025	Signifikan
10 dan 13	0,025	Signifikan
10 dan 14	0,025	Signifikan
10 dan 15	1,000	Tidak Signifikan
10 dan 16	0,034	Signifikan
10 dan 17	0,025	Signifikan
11 dan 12	1,000	Tidak Signifikan
11 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
11 dan 14	0,025	Signifikan
11 dan 15	0,025	Signifikan
11 dan 16	0,034	Signifikan
11 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
12 dan 13	1,000	Tidak Signifikan
12 dan 14	0,025	Signifikan
12 dan 15	0,025	Signifikan
12 dan 16	0,034	Signifikan

12 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
13 dan 14	0,025	Signifikan
13 dan 15	0,025	Signifikan
13 dan 16	0,034	Signifikan
13 dan 17	1,000	Tidak Signifikan
14 dan 15	0,025	Signifikan
14 dan 16	0,034	Signifikan
14 dan 17	0,025	Signifikan
15 dan 16	0,034	Signifikan
15 dan 17	0,025	Signifikan
16 dan 17	0,034	Signifikan

Keterangan :

- Kelompok 1 : Endofit 1 20%
- Kelompok 2 : Endofit 1 40%
- Kelompok 3 : Endofit 1 60%
- Kelompok 4 : Endofit 1 80%
- Kelompok 5 : Endofit 1 100%
- Kelompok 6 : Endofit 2 20%
- Kelompok 7 : Endofit 2 40%
- Kelompok 8 : Endofit 2 60%
- Kelompok 9 : Endofit 2 80%
- Kelompok 10 : Endofit 2 100%
- Kelompok 11 : Endofit 3 20%
- Kelompok 12 : Endofit 3 40%
- Kelompok 13 : Endofit 3 60%
- Kelompok 14 : Endofit 3 80%
- Kelompok 15 : Endofit 3 100%
- Kelompok 16 : kontrol positif
- Kelompok 17 : kontrol negatif

Uji *Mann Whitney* dianalisis dengan membandingkan masing-masing kelompok pada isolat endofit 1; endofit 2; endofit 3; kontrol negatif dan kontrol positif. Hasil dinyatakan ada perbedaan bermakna atau signifikan bilamana p yang didapatkan bernilai $\leq 0,05$, sedangkan data dapat dikatakan tidak signifikan atau tidak berbeda bermakna bila p senilai $> 0,05$.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Determinasi Tanaman

Penggunaan alga laut dalam penelitian ini berasal dari Pantai Nipah, Dusun Nipah, Desa Malaka, Kecamatan Pemenang, Kabupaten Lombok Utara pada bagian zona internidal dengan kedalaman 1 m. Identifikasi tanaman bertujuan untuk membuktikan identitas tanaman tersebut benar tanaman yang digunakan untuk penelitian dan mencegah tanaman yang diteliti tercampur dengan tanaman lain (Klau & Hesturini, 2021). Pelaksanaan pengujian di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Mataram. Determinasi didapatkan hasil bahwa benar alga laut *Dichotomaria marginata* berasal dari famili Galaxauraceae dengan spesies *Dichotomaria marginata*.

4.2.2 Isolasi Fungi Endofit

Proses untuk memperoleh isolat fungi endofit yang baik maka harus memperhatikan hal penting antara lain memilih sampel tanaman yang sehat, segar, bebas dari hama serta penyakit (Aqlinia et al., 2020). Proses isolasi dilakukan diatas media PDAC karena dapat menumbuhkan fungi dengan cepat sehingga fungi yang masih berada didalam sel jaringan dapat keluar, setelah itu dimurnikan di media MEA (*Malt Extract Agar*) yang dapat menumbuhkan miselium dalam jumlah yang banyak, lalu di karakterisasi dan dilanjutkan fermentasi pada media beras padat hingga diperoleh fungi endofit tumbuh sampai kedasar media. Namun, dalam penelitian ini terdapat beberapa kendala atau keterbatasan antara lain jarak

tempuh dari Mataram ke Semarang yang jauh, sehingga sampel tanaman dalam bentuk segar tidak memungkinkan untuk dikirim, sebagaimana persyaratan isolasi fungi endofit salah satunya tanaman yang digunakan harus segar. Karena jarak tempuh yang jauh antara Universitas Muhammadiyah Mataram dengan Universitas Islam Sultan Agung, maka mengakibatkan peneliti tidak dapat hadir di lokasi penelitian secara langsung. Untuk mengatasi keterbatasan tersebut dan sebagai bentuk implementasi kerjasama penelitian antara Universitas Muhammadiyah Mataram dengan Universitas Islam Sultan Agung, maka proses isolasi fungi endofit dilakukan di Universitas Muhammadiyah Mataram, sedangkan pelaksanaan uji aktivitas di laboratorium mikrobiologi Unissula.

4.2.3 Analisis KLT

Pelaksanaan analisis Kromatografi Lapis Tipis pada uji pendahuluan ditujukan dalam rangka melihat manakah metabolit sekunder dalam isolat fungi endofit berdasarkan nilai RF senyawa pada hasil KLT. Pada penelitian ini menggunakan fase diam berupa silica gel karena secara umum banyak digunakan, selain itu silica gel dalam hal efisiensi dan resolusi lebih baik karena ukuran partikel silica gel kecil antara 10-30 μm . Sedangkan pemilihan fase gerak didasarkan pada trial and error atau studi pustaka. Campuran dua pelarut organik adalah fase gerak yang dipilih sebab diatur untuk mencapai pemisahan terbaik (Gandjar & Abdul, 2015). Penelitian ini mempergunakan fase gerak kloroform: methanol yang

memiliki rasio 9:1, volume sampel yang ditotolkan 5 μ L dimana tiap masing-masing sampel dilakukan sebanyak 3 kali penotolan. Pada pengamatan dibawah spektrofotometri UV 254 nm didapatkan hasil pada sampel A1 (endofit 1) nilai Rf sebesar 0,8695, pada sampel C1 (endofit 3) 0,6521 dan sampel C2 (endofit 3) 0,8695. Sedangkan pada pengamatan dibawah spektrofotometri UV 366 nm didapatkan hasil pada sampel A2 (endofit 1) 0,5978; A3 (endofit 1) 0,6521; B1 (endofit 2) 0,5978; C3 (endofit 3) 0,5978 dan C4 (endofit 3) 0,6521. Dari semua hasil yang didapatkan nilai Rf berada pada rentang optimal, menurut (Husa & Mita, 2020) menyatakan bahwa pada rentang 0,2 – 0,8 nilai Rf dikatakan berada pada rentang optimal. Apabila dilihat dari hasil sampel A1 dari nilai Rf dan tampaknya noda dibawah sinar UV 254 nm diduga mengandung flavonoid karena nilai Rf yang diperoleh memasuki rentang baku pembanding kuersetin 0,69-0,81 (Ferdinan & Sri Rizki, 2021), menurut (Arnida et al., 2021) sampel positif mengandung flavonoid dengan noda yang tampak berwarna kuning atau kuning-cokelat dibawah sinar UV 254 nm. Selanjutnya dari sampel A2, B1, dan C3 didapatkan hasil yang diduga mengandung steroid bila dilihat dari nilai Rf dan noda yang tampak di bawah sinar UV 366 nm karena nilai Rf yang diperoleh mendekati baku pembanding β -sitosterol sebesar 0,66 (Sopianti, 2018) dan noda tampak berwarna biru kehijauan jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Hasil sampel C1 diduga mengandung senyawa saponin bila dilihat dari nilai Rf dan tampaknya noda dibawah sinar UV 254 nm karena nilai Rf yang

diperoleh sesuai dengan baku pembanding saponin 0,62 (Sopianti, 2018), sedangkan menurut (Arnida et al., 2021) positif mengandung saponin dengan noda yang tampak berwarna biru tua. Diduga sampel A3 dan C4 memiliki kandungan senyawa alkaloid bila ditinjau berdasarkan nilai Rf dan noda yang tampak di bawah sinar UV 366 nm. Menurut penelitian (Wullur et al., 2012) nilai Rf standar alkaloid adalah 0,07-0,62, sedangkan menurut (Arnida et al., 2021) positif mengandung alkaloid apabila noda yang tampak di bawah sinar UV 366 nm berwarna coklat atau jingga, dan untuk sampel C2 diduga mengandung senyawa fenol bila dilihat dari nilai Rf dan noda yang tampak di bawah sinar UV 0,8695 nm. Menurut penelitian yang dilakukan (Ramadhan et al., 2021) sampel positif mengandung senyawa fenol apabila nilai Rf 0,81 dan noda akan tampak berwarna hitam jika dilihat dibawah 254 nm sinar UV.

4.2.4 Identifikasi Bakteri

Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan cara menumbuhkan pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*). Berdasarkan pengamatan secara makroskopis dengan mengamati morfologinya didapatkan hasil koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 berwarna kuning keemasan dengan penampakan bulat permukaan cembung, dan rata pada bagian tepi. Hasil tersebut selaras akan penelitian dari (Hajar et al., 2018) dengan hasil yaitu pengamatan morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yang tumbuh pada media MSA yaitu berbentuk bulat,

warnanya kuning keemasan, permukannya rata dan pada bagian tepi rata. Positif adanya *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 di tandai dengan warna yang berubah menjadi kuning dari merah, kondisi tersebut dikarenakan bakteri memiliki kemampuan untuk memfermentasi manitol karena pada media MSA mengandung *fenol acid*. Sedangkan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan gram ditujukan dalam rangka melihat perbedaan antara bakteri gram negatif dan positif didapatkan hasil koloni berwarna ungu dan berbentuk bulat menggerombol. Hasil ini selaras akan penelitian dari (Hayati et al., 2019) yang menjelaskan bahwasannya *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yakni bakteri Gram positif dengan bentuk bulat yang pada pewarnaan Gram menghasilkan warna ungu sebab bakteri tersebut menjaga warna awalnya yakni *crystal violet*. Ini karena bakteri Gram positif memiliki kandungan peptidoglikan relatif tebal daripada bakteri Gram negatif, sehingga ketika diberi larutan *crystal violet* dinding sel bakteri akan terbentuk warna ungu yang melekat.

4.2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode uji *agar well diffusion assay* atau sumuran dan menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) untuk uji aktivitas bakteri. Metode sumuran dipilih sebab aktivitas isolat bukan sebatas pada permukaan atas media agar saja, namun pula hingga kebawah media agar sehingga luas zona hambat yang terbentuk mudah diukur (Tarigan, 2021). Media MHA dipilih karena sifatnya yang netral sehingga diharapkan tidak

mempengaruhi prosedur uji antibakteri, selain itu kandungan nutrisi MHA yang baik digunakan untuk kultur berbagai bakteri (Utomo *et al.*, 2018).

Hasil yang didapatkan diameter zona hambat berada pada kategori sedang. Diameter zona hambat pada masing-masing sampel dengan aktivitas paling besar berada pada sampel konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat $6,70 \pm 0,00$ mm yang dikatakan mempunyai daya hambat pada kategori sedang. Ini selaras akan penelitian dari (Yulianti & Baso Manguntungi, 2018) dengan hasil yaitu pada konsentrasi 80% zona antimikroba yang dibentuk oleh isolat alga laut dari famili Galaxauraceae berdiameter 4,33 mm dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Perbedaan zona hambat tersebut disebabkan lokasi pengambilan sampel yang berbeda. Sampel berkonsentrasi relatif tinggi akan lebih besar dalam menghasilkan diameter zona hambat, sedangkan sampel dengan konsentrasi yang rendah akan menghasilkan zona hambat yang lebih kecil.

Uji *Shapiro-wilk* sebagai uji normalitas data penelitian ini yang digunakan dalam melihat apakah data menghasilkan distribusi normal. Hasil penelitian menunjukkan signifikansi dengan nilai $< 0,05$ yang bermakna tidak normal distribusi yang dihasilkan, dimana hasil tidak memenuhi parameter uji normalitas yaitu $p > 0,05$ (Pratama & Rita, 2021). Setelah melakukan uji normalitas, kemudian menggunakan uji *Levene Test* untuk menguji homogenitas, uji ini ditujukan dalam rangka memperlihatkan bahwa beberapa kumpulan data sampel diambil dari

populasi dengan varians sama. Hasil menunjukkan bahwa varians data berbeda atau tidak homogen dengan signifikansi yang didapatkan yaitu 0,000, dimana hasil tersebut tidak sesuai dengan parameter uji homogenitas yaitu $p > 0,05$ (Sianturi, 2022). Dikarenakan uji homogenitas dan normalitas didapatkan p dengan nilai $< 0,05$, maka dilanjut uji *Kruskal Wallis*. Ini ditujukan dalam rangka melihat antara kelompok variabel independen dengan variabel dependen terdapat perbedaan yang signifikan atau tidak. Hasil menunjukkan bahwa data yang diperoleh signifikan atau perbedaan bermakna dengan signifikansi 0,000, dimana ini sesuai dengan standar nilai signifikansi $p < 0,05$ (Jamco & A. M. Balami, 2022). Analisis dilanjut menggunakan uji *Mann Whitney* dalam rangka melihat kelompok dengan perbedaan bermakna (Mubarok & Susanto, 2021). Data dengan p senilai $\leq 0,05$ berarti berbeda bermakna atau signifikan, sementara bila p senilai $> 0,05$ berarti data tidak berbeda bermakna atau tidak signifikan. Hasil data yaitu antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok 4 [Endofit 1 80%], kelompok 5 [Endofit 1 100%], kelompok 10 [Endofit 2 100%], kelompok 14 [Endofit 3 80%] dan kelompok 15 [Endofit 3 100%] terdapat perbedaan bermakna dengan signifikansi yang didapatkan yaitu $< 0,05$. Berdasarkan hasil ini bisa dikatakan apabila tiap-tiap kelompok yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif maka mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Hasil juga menunjukkan bahwa data antara kelompok kontrol positif dengan kelompok 1 sampai kelompok 15 memiliki perbedaan bermakna

dengan p senilai $< 0,05$, oleh karenanya bisa dikatakan kelompok kontrol positif relatif baik untuk menghambat aktivitas antibakteri bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 daripada kelompok 1 sampai kelompok 15. Dari seluruh kelompok setelah diuji *Mann Whitney* terdapat 3 kelompok yang terefektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yaitu Kelompok 5 [Endofit 1 100%], kelompok 10 [Endofit 2 100%] dan kelompok 15 [Endofit 3 100%] dengan zona hambat $6,70 \pm 0,00$ mm.

Senyawa aktif yang diduga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri pada isolat endofit 1; endofit 2 dan endofit 3 adalah alkaloid, saponin, flavonoid, fenol dan steroid. Mekanisme dari alkaloid sebagai antibakteri melalui mencegah unsur pembentuk peptidoglikan pada sel bakteri karena senyawa alkaloid memiliki gugus aril kuartener dan mampu berinteraksi dengan DNA (Rahman et al., 2017). Flavonoid sebagai antibakteri dapat memicu berubahnya transport nutrisi serta komponen organik yang memicu munculnya efek beracun pada bakteri. Terjadinya ini dikarenakan senyawa flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang terdapat dalam strukturnya (Egra et al., 2019). Saponin dengan mekanisme kerja permeabilitas dinding sel meningkat dan tegangan permukaan dinding sel berkurang, karena di dinding sel saponin bergabung dengan lipoporisakarida sehingga ketika dinding sel berinteraksi akan mengalami pembelahan dan bisa dengan mudahnya zat antibakteri masuk ke sel sehingga menghambat proses metabolisme selama bakteri mati

(Dwicahyani et al., 2018). Steroid sebagai antibakteri mempunyai mekanisme kerja dengan cara membran lipid terganggu, memungkinkan kebocoran ke dalam liposom. Selain itu (Sudarmi et al., 2017) memberikan pemaparan bahwa dapat berikatan dengan membran fosfolipid yang permeabel terhadap senyawa yang larut dalam lemak, mengakibatkan penurunan integritas membran dan perubahan susunan membran yang menyebabkan kerapuhan sel dan pecah. Fenol memiliki mekanisme yang mencegah asam N-asetilmuramat yang berikatan ke dalam struktur mukopeptida sehingga mengganggu komponen peptidoglikan di dinding sel, yang secara umum menghasilkan kekakuan dinding sel, oleh karenanya mempengaruhi pembentukan dinding sel bakteri ketika terganggunya proses sintesis. Hal ini menyebabkan hilangnya dinding sel bakteri yang resisten, sebatas membran sel yang bocor dan rentan yang tersisa (Hidayah et al., 2017). Hasil yang didapatkan mengenai senyawa metabolit tersebut senada dengan hasil penelitian (Pandien et al., 2019) dan (Yulianti & Baso Manguntungi, 2018) bahwa alga merah dari famili Galaxauraceae yang termasuk famili yang sama dengan alga *Dichotomaria marginata* memiliki kandungan metabolit sekunder sebagai antibakteri yakni fenol, saponin, flavonoid, alkaloid, serta steroid.

Penelitian ini menggunakan kontrol positif Siprofloksasin. Hasil Penelitian diperoleh diameter zona hambat Siprofloksasin sebesar $33,00 \pm 1,73$ mm dengan kategori sangat kuat. Pemilihan Siprofloksasin didasarkan dari penelitian (Nurhamidin et al., 2021) dimana ini didapatkan

hasil yaitu Siprofloksasin berdiameter zona hambat 13,6 mm mampu menghambat *Staphylococcus aureus*. Perbedaan hasil disebabkan karena perbedaan konsentrasi yang digunakan sehingga mempengaruhi proses difusi kontrol positif tersebut ke dalam agar (Nurhamidin et al., 2021). Pemilihan siprofloksasin sebagai kontrol positif sebab Siprofloksasin adalah antibiotik yang memiliki spektrum luas dan termasuk dalam kelas fluorokuinolon yang terbanyak dipergunakan dan mekanisme kerjanya adalah mencegah sintesis protein dan menghalangi penggabungan ujung amino asil t-RNA dengan peptidil transferase (Egra et al., 2019), Siprofloksasin juga memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terdapat pada sampel isolat yaitu fenol.

DMSO 1% sebagai kontrol negatif penelitian ini. DMSO dipilih menjadi pelarut sebab senyawa polar dan nonpolar hampir seluruhnya dapat dilarutkan, dan DMSO juga tidak mengganggu pengamatan karena tidak terbentuk zona hambat pertumbuhan bakteri (Octaviani & Syafrina, 2018). Hasil penelitian didapatkan bahwa DMSO 1% tidak terbentuk diameter zona hambat. Hal tersebut menunjukkan bahwa yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri adalah sampel isolat bukan DMSO 1% (Egra et al., 2019).

Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu belum dilakukan identifikasi jenis fungi sehingga belum diketahui jenis fungi secara spesifik.

BAB V

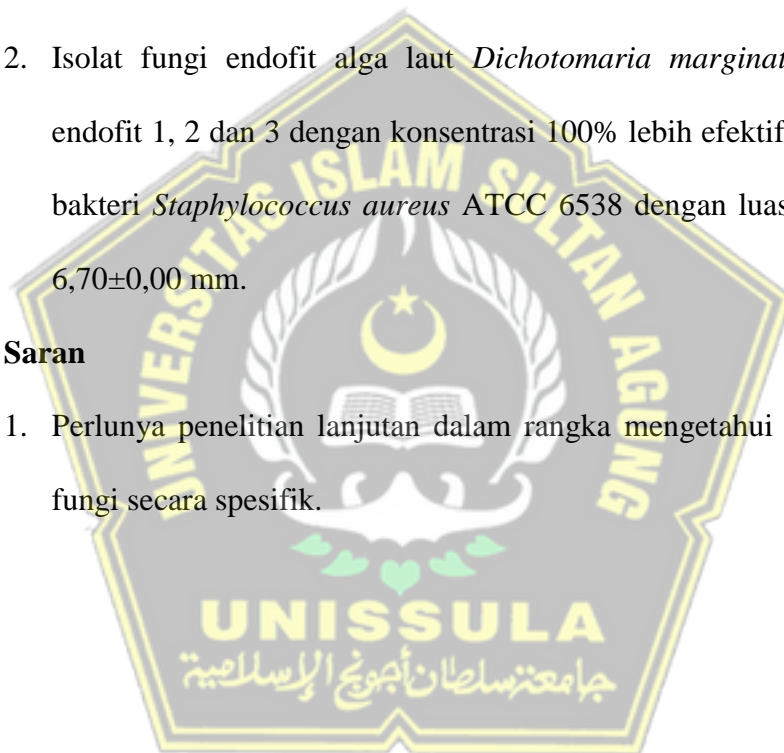
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
2. Isolat fungi endofit alga laut *Dichotomaria marginata* pada isolat endofit 1, 2 dan 3 dengan konsentrasi 100% lebih efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan luas zona hambat $6,70 \pm 0,00$ mm.

5.2 Saran

1. Perlunya penelitian lanjutan dalam rangka mengetahui identitas jenis fungi secara spesifik.



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.
- Aqlinia, M., Pujiyanto, S., & Wijanarka. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) Dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Akademika Biologi*, 9(Vol. 9 No. 1 Januari 2020), 23–31. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/27742>.
- 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.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>.
- 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>.
- Djakatara, R. S., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Jamur Laut Yang Berasosiasi Dengan Alga *Halimeda opuntia*. *Pharmacoon*, 8(1), 41. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29234>.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria Atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J.Peng.&Biotek*, 7(1), 1–15. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>.
- Egra, S., Mardhiana, ., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 26. <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v12i1.5143>.
- Ferdinan, A., & Sri Rizki, F. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Pandan Hutan Jenis Baru *Freycinetia Sessiliflora Rizki*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.642>.

- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>.
- Gandjar, I. G., & Abdul, R. (2015). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar.
- Hajar, S., Helmi, T. Z., Darmawi, Azhar, A., Fakhurrrazi, & Azhar. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Vagina Sapi Aceh. *Jimvet*, 2(3), 341–350.
- Hasan Basri, M., Zulkifli, L., & Syukur, A. (2021). Isolation of Endophytic Fungi from *Vitex trifolia* L and Antagonism Test against *Sclerotium rolfsii* and pathogenic bacteria. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 72–80. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2340>.
- Hasanah, N., & Gultom, E. S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri MDR (Multi Drug Resistant) Dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2), 45. <https://doi.org/10.24114/jbio.v6i2.16600>.
- Hasiani, et al. (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>.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>.
- HERLINA, N. (2015). Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu mastitis subklinis di Tasikmalaya, Jawa Barat. 1(Winarso 2008), 413–417. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010305>.
- Hidayah, N., Mustikaningtyas, D., & Bintari, S. H. (2017). Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia *Sargassum muticum* terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Life Science*, 6(2), 51.
- Husa, F., & Mita, S. R. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16–25. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/25955>.
- Ikrom, T.R Denok, A., A Reni, W., B Bintang, P., N Rafika, T., & Wasito. (2014). Studi In Vitro Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sain Veteriner*, 32(1), 105–116.

- Jamco, J. C. S., & A. M. Balami. (2022). Analisis Kruskal-Wallis untuk Mengetahui Konsentrasi Belajar Mahasiswa Berdasarkan Bidang Minat Program Studi Statistika FMIPA Unpatti. *Jurnal Matematika, Statistika Dan Terapannya*, 1(1), 39–44. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/parameter/article/view/2812>.
- Kasanah, N., Ulfah, M., Nugroho, A., Wijnana, A., & Triyanto. (2021). Rumput Laut Indonesia *Keanekaragaman Rumput Laut Nusa Tenggara Timur*. Gadjah Mada University Press.
- Klau, M. H. C., & Hesturini, R. J. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>.
- Kristiandi, K., Lusiana, S. A., A'yunin, N. A., & Ramdhini, R. N. (2021). *Teknologi Fermentasi*. Yayasan Kita Menulis.
- Lestari, P. B., & Triasih wahyu hartati. (2017). *Mikrobiologi Berbasis Inkuiry*. Gunung Samudera.
- Mubarok, A., & Susanto, Sa. (2021). Mann Whitney Test in Comparing the Students' Consultation Results of Entrepreneurial Practice Between Male and Female Lecturers in Economic Faculty of Pamulang University. *Procuratio : Jurnal Ilmiah Manajemen Procuratio*, 9(1), 9–15.
- Murdiyah, S. (2017). Endophytic Fungi of Various Medicinal Plants Collected From Evergreen Forest Baluran National Park and Its Potential as Laboratory Manual for Mycology Course. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3(1), 64. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v3i1.3977>.
- Nurhamidin, A. P. R., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Klebsiella Pneumoniae*. *Pharmacon*, 10(1), 748. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32772>.
- 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., & Syafrina. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L .) Van Royen) (Antibacterial Activity of Etanol Extract From Leaves and Bark of Sapodilla (*Manilkara zapota* (L .) Van Royen)). 16(2), 0–5.

- 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>.
- Pane, D. N. (2013). *Isolasi fungi endofit penghasil antibiotika*. 3(11), 66–80.
- Pratama, S. A., & Rita, I. P. (2021). Pengaruh Penerapan Standar Operasional Prosedur Dan Kompetensi Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan Divisi Ekspor Pt. Dua Kuda Indonesia. *Jurnal Ilmiah M-Progress*, 11(1), 38–47. <https://doi.org/10.35968/m-pu.v11i1.600>.
- Putri, R. A., Simbala, H. E. I., & Mpila, D. A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* Dan *Salmonella typhi*. *Pharmakon*, 9(4), 525. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.31360>.
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>.
- Rahmi, Y., Darmawi, D., Abrar, M., Jamin, F., Fakhurrizi, F., & Fahrimal, Y. (2015). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium Dan Vagina Kuda (*Equus caballus*) (Identification of *Staphylococcus aureus* in Preputium and Vagina of Horses (*Equus caballus*)). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2). <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v9i2.3805>.
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 58. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>.
- Rasheed, N. A., & Hussein, N. R. (2021). *Staphylococcus aureus*: An overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular and Clinical Medicine*, 8(3), 1160–1183.
- Safwan, S., Wang, S. W., Hsiao, G., Hsiao, S. W., Hsu, S. J., Lee, T. H., & Lee, C. K. (2022). New Trichothecenes Isolated from the Marine Algicolous Fungus *Trichoderma brevicompactum*. *Marine Drugs*, 20(2), 1–10. <https://doi.org/10.3390/md20020080>.
- Sianturi, R. (2022). Uji homogenitas sebagai syarat pengujian analisis. *Jurnal*

Pendidikan, Sains Sosial, Dan Agama, 8(1), 386–397.
<https://doi.org/10.53565/pssa.v8i1.507>.

Sopianti, D. S. (2018). Skrining Fitokimia Dan Profil Klt Metabolit Sekunder Dari Daun Ruku-Ruku (*Ocimum tenuiflorum* L.) Dan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L). *Scientia: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 8(1), 44.
<https://doi.org/10.36434/scientia.v8i1.118>.

Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Symbiosis Journal of Biological Sciences*, 5(2), 47.
<https://doi.org/10.24843/jsymbiosis.2017.v05.i02.p03>.

Tarigan, I. L. (2021). *Anti Bakteri : Potensi Tanaman Jambi*. Edu Publisher.

Trianasta, M., Warsidah, & Sofiana, M. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Dari Fungi Endofit *Caulerpa racemosa* Asal Perairan Pulau Lemukutan. *Indonesian Journal Of Pure And Applied Chemistry*, 4(1), 40–50.

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.

Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 7–9.
<https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36283>.

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>.

Winastri, N. L. A. P., Muliastri, H., & Hidayati, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Air Perasan Dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*, 19(2).
<https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v19i2.3786>.

- Winowoda, S. D., Singkoh, M. F. O., & Siahaan, R. (2020). Kekayaan Dan Potensi Senyawa Bioaktif Makroalga Di Pesisir Atep Oki, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 8(3), 7. <https://doi.org/10.35800/jplt.8.3.2020.30454>.
- Wullur, A., Schaduw, J., & Wardhani, A. (2012). Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Poltekkes Manado*, 3(2), 96483.
- Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. P. Y. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 61–70. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.891>.
- 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>.

