

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT
SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI ALGA MERAH *Eucheuma
edule* DARI PANTAI LENDANG LUAR LOMBOK UTARA NTB**



Oleh:
NI PUTU AYU RIZKA AFSARI
2019E1C037

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Memperoleh Sarjana Farmasi Pada
Program Studi S1 FARMASI Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Mataram

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
TAHUN 2023**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT
SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI ALGA MERAH *Eucheuma
Edule* DARI PANTAI LENDANG LUAR LOMBOK UTARA NTB**


Oleh:

NI PUTU AYU RIZKA AFSARI
2019E1C037

Menyetujui,

Dosen Pembimbing Pertama,

Dosen Pembimbing Kedua,


(apt. Safwan, M.Sc., Ph.D)
NIDN. 0825078802


(apt. Abdul Rahman W, M.Farm)
NIDN. 0817038601

LEMBAR SUSUNAN DEWAN PENGUJI SKRIPSI

**SKRIPSI INI TELAH DISEMINARKAN DAN DIUJI OLEH TIM
PENGUJI PADA SELASA, 20 JUNI 2023**

OLEH:

DEWAN PENGUJI

Ketua

apt. Safwan, M.Sc., Ph.D

NIDN: 0825078802

Anggota 1

Apt. Yuli Fitriana, M.Farm

NIDN: 0822078202

Anggota 2

apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm

NIDN: 0817038601

()
()
()
15/08.23

Mengetahui,

Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Mataram

Dekan,



apt. Nurul Qiyaam, M.Farm.Klin.

NIDN. 0827108402

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ni Putu Ayu Rizka Afsari
Tempat, tanggal lahir : Sumbawa, 11 Juni 2001
NIM : 2019E1C037
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Fakultas Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Alga Merah *Eucheuma Edule* dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB

Dengan ini saya menyatakan yang sebenarnya:

1. Bahwa naskah skripsi ini benar-benar orisinal dan baru, dibuat oleh saya sendiri;
2. Bahwa saya tidak menjiplak karya ilmiah milik orang lain;
3. Bahwa naskah ini sepengetahuan saya belum ada yang membuat atau telah dipublikasikan atau pernah ditulis dan/atau diterbitkan oleh orang lain;
4. Bahwa setiap pendapat orang lain yang saya kutip, selalu saya cantumkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila pernyataan saya tidak benar dan dikemudian hari ternyata ada pihak lain yang mengklaim sebagai tulisannya yang saya jiplak, maka saya akan mempertanggungjawabkan sendiri tanpa melibatkan dosen pembimbing dan/atau Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan saya bersedia menerima sanksi akademis berupa dicabutnya predikat kelulusan/gelar kesarjanaannya.

Mataram, 16 Agustus 2023

Yang membuat pernyataan,



Ni Putu Ayu Rizka Afsari

NIM.2019E1C037



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Putu Ayu Rizka Afsari
NIM : 2019E1C037
Tempat/Tgl Lahir : Sumbawa, 11 Juni 2001
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Fakultas Ilmu Kesehatan
No. Hp : 082341494449
Email : rizkaafsari2@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi
Fungi Alga Merah *Eucheuma edule* dari Pantai Lendang Uar
Lombok Utara NTB

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 93%

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milik orang lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mataram, 7 Agustus 2023
Penulis



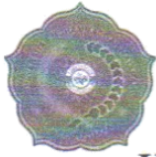
Ni Putu Ayu Rizka Afsari
NIM. 2019E1C037

Mengetahui,
Kepala UPT. Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos.,M.A. wly
NIDN. 0802048904

*pilih salah satu yang sesuai



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Putu Ayu Rizka Afsari
NIM : 2019E1C037
Tempat/Tgl Lahir : Sumbawa, 11 Juni 2001
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Fakultas Ilmu Kesehatan
No. Hp/Email : 0823 41494449
Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah *Eucheuma edule* dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 7 Agustus 2023
Penulis



Ni Putu Ayu Rizka Afsari
NIM. 2019E1C037

Mengetahui,
Kepala UPT Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos.,M.A.
NIDN. 0802048904

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Masa depan adalah milik mereka yang percaya pada keindahan mimpi mereka”~Eleanor Roosevelt

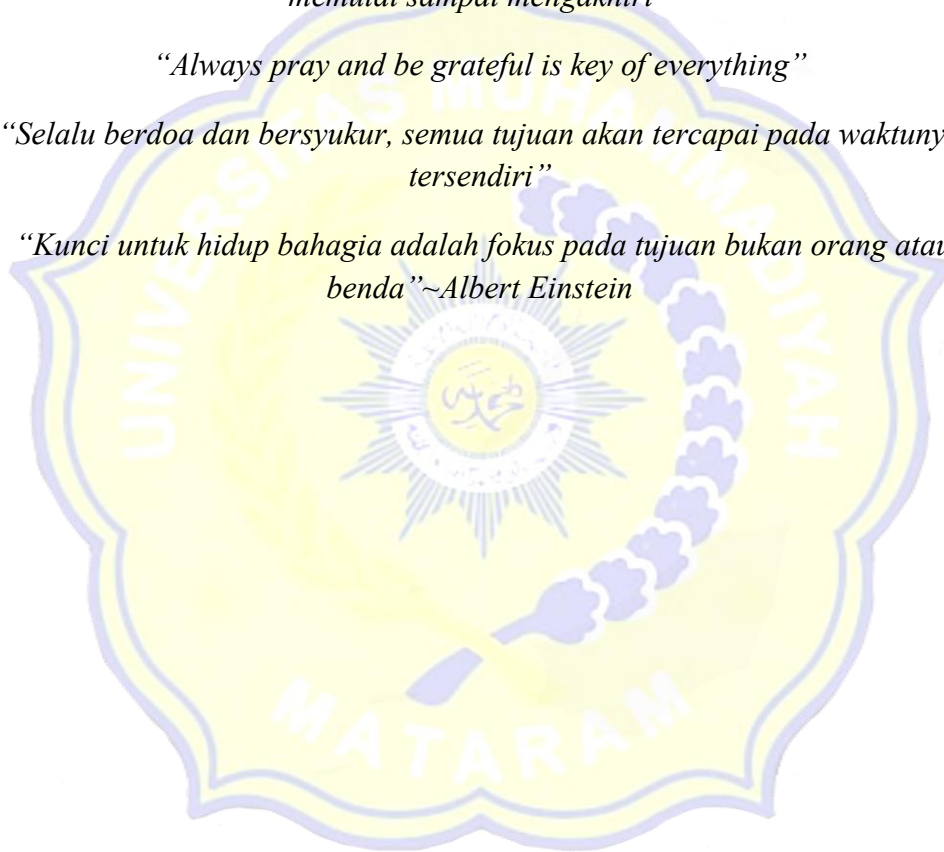
“Zero is my beginning”

“sesuatu yang diperjuangkan dari nol adalah kesempatan berkualitas, karena sesulit apapun cobaan, seorang yang tangguh selalu melewati moment dari memulai sampai mengakhiri”

“Always pray and be grateful is key of everything”

“Selalu berdoa dan bersyukur, semua tujuan akan tercapai pada waktunya tersendiri”

“Kunci untuk hidup bahagia adalah fokus pada tujuan bukan orang atau benda”~Albert Einstein



PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur Skripsi ini penulis persembahkan kepada :

1. Kedua orang tuaku ibu (Ni Luh Suadi) dan bapak (I Made Sarjana) yang selalu mendukung disetiap langkahku, terimakasih atas segala pengorbanan dan doa yang tidak pernah putus untukku. Terimakasih juga atas semua nasihat dan kasih sayang kalian, mendidik dan membentukku untuk agar kuat dan selalu mengajarkan arti dari sebuah kesabaran dan keikhlasan. Akan selalu kuingat pesan kalian berdua “nak dewasa adalah awal kamu memulai, ketika kamu telah memulai maka semakin besar rintangan yang akan kamu lewati dan oleh karenanya kamu harus mampu bertahan. Selalu berusaha, beroda dan ingat kepada kedua orangtua”. Terimakasih mamak dan bapak, berkat dukungan kalianlah sehingga penulis mampu menyelesaikan Perkuliahan di prodi S1 Farmasi Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Semua keluarga besar dan adikku tersayang yang selalu ada dalam setiap perjuanganku, atas segalanya penulis ucapkan terimakasih kepada kalian semua.
3. Kepada alamater Universitas Muhammadiyah Mataram, penulis **Ni Putu Ayu Rizka Afsari NIM 2019E1C037** persembahkan Skripsi ini sebagai bukti menyelesaikan tugas akhir sesuai dengan aturan yang berlaku di program studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan khadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat, rahmat serta hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini, dengan judul “AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT SEKUNDER HASIL FERMENTASI FUNGI ALGA MERAH *EUCHEUMA EDULE* DARI PANTAI LENDANG LUAR LOMBOK UTARA NTB” yang disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan program S1 Farmasi di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Penyelesaian Skripsi ini tidak lepas dari dorongan, motivasi dan uluran tangan dari berbagai pihak yang memberi arahan sehingga kendala dalam penyusunan Skripsi ini mampu diatasi sesuai prosedur yang ditetapkan Prodi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Drs. Abdul Wahab, MA selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Mataram
2. apt. Nurul Qiyaam, M.Farm. Klin selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. Cahaya Indah Lestari, M.Keb selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
4. apt. Baiq Leny Nopitasari, M.farm selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
5. apt. Safwan, M.Sc.,Ph.D selaku pembimbing I Skripsi saya yang dengan sabar membimbing, memberi arahan, dan segala jenis bantuan kepada peneliti selama proses penelitian dan penyusunan Skripsi ini.

6. apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram, juga selaku pembimbing II saya yang dengan sabar dalam memberikan arahan dan masukan dalam penyempurnaan Skripsi ini.
7. apt. Yuli Fitriana, M.Farm selaku dosen penguji yang dengan sabar memberikan arahan, bantuan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.
8. Kedua Orang tua dan keluarga tercinta, penulis persembahkan Skripsi ini atas segala dukungan, doa, dan motivasi, baik berupa moral dan materil.
9. Sahabat-sahabat dan rekan perkuliahanku. Terimakasih Thoriq, Putri, Dwi, Dhea, Wiwid, Umu, Wulan Sofia sekaligus team support system, serta telah berkontribusi membantu dan membersamai setiap proses penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan SKRIPSI ini, semoga Tuhan selalu mempermudah jalan kesuksesan kedepannya.
10. Seluruh rekan angkatan maupun non angkatan dari S1 Farmasi dan D3 farmasi. Group PWYUR dan CLASS B-S1 PHARMACY.
11. Team healing dan motivasi. Erda, Shinta, Fitri, Rahman, Dayu, Firma, Erlin, sekaligus sahabat lama dan rekan luar universitas.

Mataram, Desember 2022

Ni Putu Ayu Rizka Afsari

NIM. 2019E1C037

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
FAKULTAS ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI S1 FARMASI
TAHUN 2023

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR METABOLIT SEKUNDER HASIL
FERMENTASI FUNGI ALGA MERAH *Eucheuma edule* DARI PANTAI LENDANG
LUAR LOMBOK UTARA NTB

Ni Putu Ayu Rizka Afsari, 2023

Pembimbing: (1) Safwan, (2) Abdul Rahman Wahid, (3) Yuli Fitriana

ABSTRAK

Metabolit sekunder hasil fermentasi merupakan sumber penemuan kandidat obat baru yang kaya akan manfaat. Metabolit sekunder dihasilkan dari fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman. Potensi senyawa obat dari fungi endofit mampu mengurangi penggunaan tanaman dikarenakan memiliki metabolit yang serupa dengan tanaman tempat fungi bersimbiosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi aktivitas antibakteri dan antijamur dari tanaman laut alga merah *Eucheuma edule* yang diambil dari Pantai Lendang Luar, Lombok Utara, NTB. Metode penelitian ini menggunakan *true experimental design* secara *in vitro* dengan pengamatan secara makroskopis dari fungi endofit yang telah diisolasi dari alga merah *Eucheuma edule* dengan penanaman melalui media MEA. Fungi yang telah dimurnikan selanjutnya difermentasi dengan media padat *solid rice*. Hasil fermentasi kemudian di ekstraksi untuk mendapatkan sari senyawa metabolit, yaitu secara maserasi dan menguapkannya melalui *rotary evaporator*. Ekstrak murni fungi endofit kemudian dicek profil kromatografinya sebagai pengamatan lanjutan. 8 Ekstrak fungi yang berhasil difermentasi dilanjutkan pengujian aktivitas dengan teknik difusi cakram untuk mengetahui zona hambat fungi terhadap bakteri dan jamur. Hasil dari penelitian ini didapatkan zona hambat terbanyak dari uji bakteri *E.coli* dengan aktivitas lemah, sedang dan kuat selanjutnya diikuti *S.aureus* dengan aktivitas sedang dan pengujian jamur *C.albicans* tidak ada yang beraktivitas. Kesimpulan yang didapatkan dari 8 ekstrak fungi endofit yang berhasil diujikan, hanya 6 fungi yang aktif dan 2 lainnya tidak beraktivitas dari semua pengujian.

Kata Kunci: antibakteri, antijamur, *eucheuma edule*, fungi endofit, zona hambat

MUHAMMADIYAH UNIVERSITY OF MATARAM
FACULTY OF HEALTH SCIENCES, PHARMACY PROGRAM, 2023

**ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY TESTS OF SECONDARY
METABOLITES DERIVED FROM THE FERMENTATION OF RED ALGAE
FUNGAL (*Eucheuma edule*) OF LENDANG LUAR BEACH, NORTH LOMBOK,
NTB**

Ni Putu Ayu Rizka Afsari, 2023

Supervisors: (1) Safwan, (2) Abdul Rahman Wahid, (3) Yuli Fitriana

ABSTRACT

Secondary metabolites obtained from fermentation are a valuable source for the discovery of new drug candidates with numerous benefits. These secondary metabolites are produced by endophytic fungi residing within plant tissues. The medicinal compound potential of endophytic fungi can reduce the dependence on plant resources due to the presence of metabolites similar to those found in the host plants. The objective of this research is to explore the antibacterial and antifungal activities of secondary metabolites derived from the red algae (*Eucheuma edule*) collected from Lendang Luar Beach, North Lombok, West Nusa Tenggara. The research employs a true experimental design conducted *in vitro*, involving macroscopic observations of endophytic fungi isolated from *Eucheuma edule*, cultivated using MEA (Malt Extract Agar) medium. The isolated fungi are then purified and subjected to fermentation using solid rice medium. The resulting fermentation products are extracted to obtain the metabolite compound extract through maceration and rotary evaporation. Subsequently, the pure endophytic fungal extract undergoes chromatographic profiling for further analysis. Among the successfully fermented fungal extracts, eight extracts are chosen for activity testing utilizing disc diffusion technique to determine inhibition zones against bacteria and fungi. The results indicate the most significant inhibition zones against *E. coli* bacteria with weak, moderate, and strong activities, followed by *S. aureus* with moderate activity; however, there is no observed activity against *C. albicans* fungi. From the tested eight endophytic fungal extracts, it is concluded that only six fungi exhibit activity, while the remaining two show no activity in all conducted tests.

Keywords: Antibacterial, Antifungal, *Eucheuma Edule*, Endophytic Fungi, Inhibition Zones

MENGESAHKAN
SALINAN FOTO COPY SESUAI ASLINYA
MATARAM

KEPALA
UPT P3B
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM

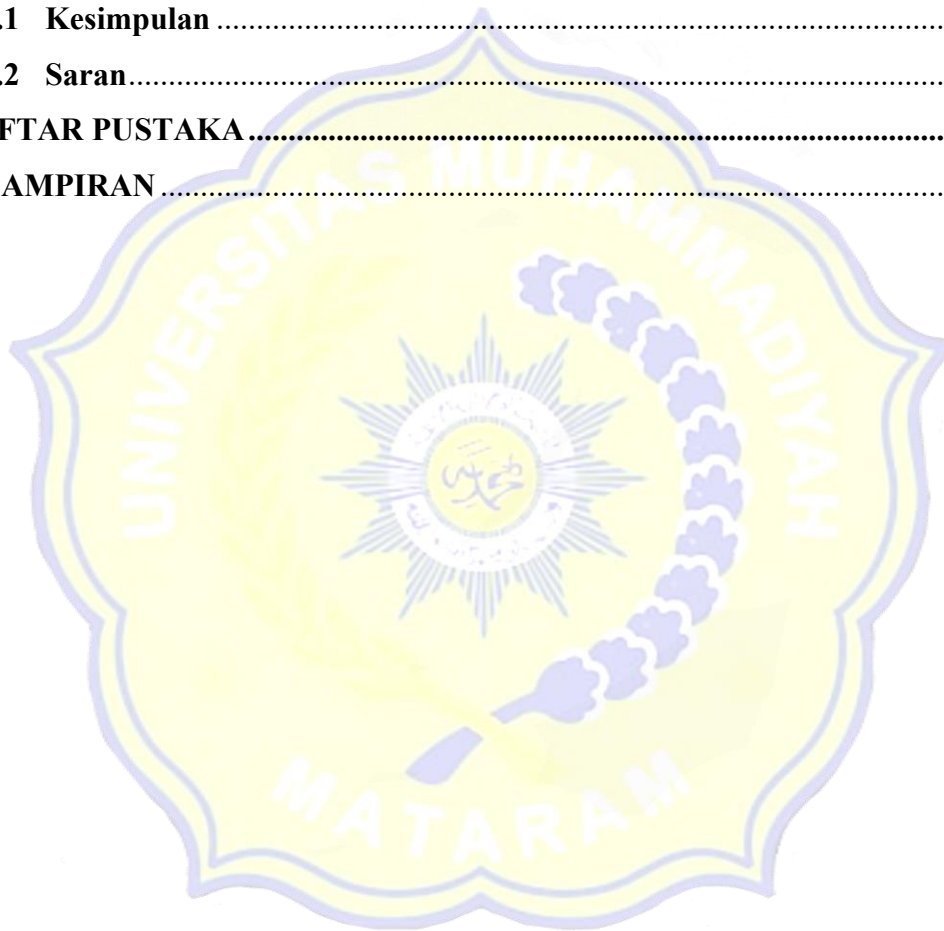
Humaira, M.Pd
NIDN. 0803048601

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR SUSUNAN DEWAN PENGUJI SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	v
SURAT PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI	vi
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (<i>Scientific</i>)	4
1.4.2 Bagi Pengguna (<i>Consumer</i>)	4
1.5 Landasan Teori.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan Teori.....	7
2.1.1 Biota Laut dan Potensi Keberadaan Fungi Laut Di Lombok.....	7
2.1.2 Alga Merah <i>Eucheuma edule</i>	8
2.1.3 Fungi Endofit	9
2.1.4 Fermentasi Fungi Endofit	10

2.1.5 Metabolit Sekunder Fungi Endofit	11
2.1.6 Aktivitas Metabolit Sekunder Fungi Endofit.....	12
2.1.7 Ekstraksi.....	13
2.1.8 Antibakteri dan Antijamur	13
2.1.9 Bakteri dan Jamur Uji	13
2.2 Kerangka Teori	17
2.3 Kerangka Konsep.....	18
2.4 Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1 Desain Penelitian	20
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.3 Variabel Penelitian	20
3.3.1 Variabel Bebas	20
3.3.2 Variabel Terikat	20
3.3.3 Variabel Pengganggu.....	21
3.4 Definisi Operasional.....	21
3.5 Populasi dan Sampel	22
3.5.1 Populasi.....	22
3.5.2 Sampel	22
3.6 Alat dan Metode Pengumpulan Data	22
3.6.1 Alat dan Bahan.....	22
3.6.2 Metode Pengumpulan Data.....	23
3.7 Metode Pengolahan dan Analisis Data.....	29
3.7.1 Metode Pengolahan Data	29
3.7.2 Analisis Data.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil Penelitian	32
4.1.1 Isolasi Fungi Endofit dalam Media MEA.....	32
4.1.2 Purifikasi Fungi Endofit.....	33
4.1.3 Karakterisasi Fungi Endofit Secara Makroskopis	33
4.1.4 Fermentasi Fungi Endofit	33

4.1.5 Ekstraksi Hasil Fermentasi Fungi Endofit.....	34
4.1.6 Profil Kromatografi Lapis Tipis	35
4.1.7 Skrining Fitokimia Ekstrak Fungi Endofit dengan pereaksi FeCl ₃ ..	36
4.1.8 Skrining Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Fungi Endofit	36
4.2 Pembahasan	37
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	46
BAB V PENUTUP.....	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	56



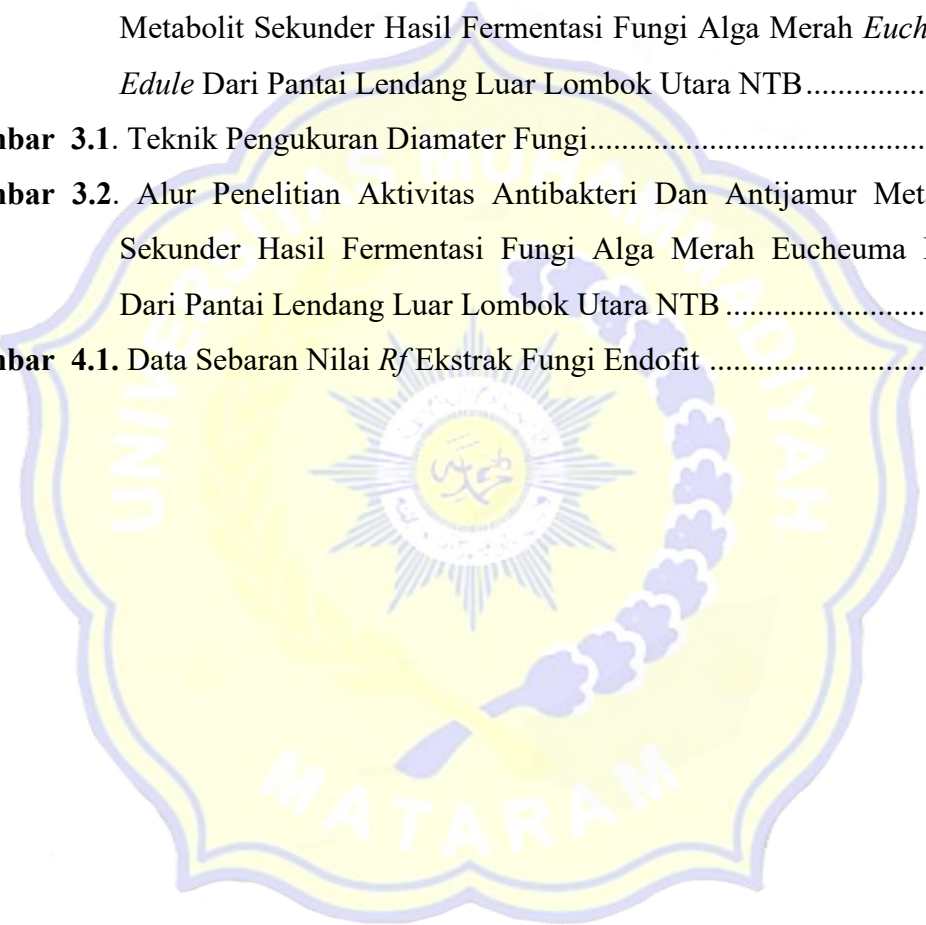
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Keaslian Penelitian Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah <i>Eucheuma edule</i> dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB	15
Tabel 4.2. Total Ekstrak Murni Fungi Endofit Hasil Fermentasi.....	35
Tabel 4.3. Data Hasil Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Sampel.....	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Distribusi Senyawa Baru Biota Laut	8
Gambar 2.2. Alga Merah <i>Eucheuma edule</i>	9
Gambar 2.3. Kerangka Teori Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i> Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB.....	17
Gambar 2.4. Kerangka Konsep Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i> Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB.....	18
Gambar 3.1. Teknik Pengukuran Diameter Fungi.....	30
Gambar 3.2. Alur Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i> Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB.....	31
Gambar 4.1. Data Sebaran Nilai R_f Ekstrak Fungi Endofit	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Media Penanaman.....	57
Lampiran 2. Isolasi Fungi Endofit Dari Sampel Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i> ...	61
Lampiran 3. Purifikasi Fungi Endofit Sampel Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i>	64
Lampiran 4. Fermentasi Fungi Endofit Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i> dalam Skala Kecil	68
Lampiran 5. Ekstraksi Hasil Fermentasi Sampel Fungi Endofit Alga Merah <i>Eucheuma Edule</i>	69
Lampiran 6. Proses Identifikasi Profil KLT.....	71
Lampiran 7. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur	74



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kekayaan hayati Indonesia tidak diragukan lagi, merupakan negara maritim didominasi oleh perairan luas dengan sumber daya melimpah dan berpotensi. Kondisi geografis yang baik disertai dengan Indonesia yang beriklim tropis menghasilkan keanekaragaman dan produktivitas biota laut yang tinggi (Wiryana, Edi and Kawana, 2018).

Perairan yang kaya akan mineral dan sinar matahari yang cukup menjadikan Indonesia sebagai negara dengan lahan subur untuk pertumbuhan berbagai jenis ekosistem laut seperti lamun, mangrove, terumbu karang dan alga (Khasanah utami, 2016).

Tumbuhan laut alga adalah mikroorganisme mirip tumbuhan yang menempel pada substrat yang tumbuh pada perairan pantai. Secara morfologi rumput laut termasuk kelas *Thallophyta*, yaitu akar, batang dan daunnya belum teridentifikasi secara jelas (Watung, Kepel and Lumingas, 2016). Alga secara umum terdiri dari tiga kelas meliputi *Chlorophyta* (alga hijau), *Phaeophyta* (alga coklat) dan *Rhodophyta* (alga merah) (Wayan , 2020).

Perkembangan infeksi penyakit oleh bakteri dan jamur patogen menjadi masalah di negara Indonesia sehingga kebutuhan akan senyawa obat baru terus dilakukan pengembangan (Dwi, 2022). Metabolit sekunder

dari rumput laut diteliti bersifat antimikroba, antivirus, antikanker, anti-inflamasi dan senyawa *anti-fouling* (Bart *et al.*, 2020). Salah satu jenis tumbuhan laut yang mengandung metabolit sekunder adalah jenis alga merah (Himayanti, 2022). Metabolit sekunder dalam alga merah tersebut merupakan bentuk untuk mempertahankan diri (Kepel *and* Mantiri, 2019).

Tumbuhan laut alga dalam bidang kesehatan dimanfaatkan dalam pembuatan kosmetik dan obat tradisional karena memiliki metabolit sekunder yang bersifat antibakteri dan antiinflamasi. Rumput laut juga sebagai sumber penghasil senyawa bioaktif yang dipercaya mampu digunakan sebagai alternative obat (Kim *et al.*, 2021).

Metabolit sekunder juga dihasilkan dari mikroorganisme seperti fungi endofit dalam tanaman. Fungi endofit berasal dari kata endon yang berarti di dalam dan pyton berarti tanaman inang Hakim (2015) dalam Indrawati (2019). Fungi atau jamur endofit adalah fungi yang hidup secara *intraseluler* pada jaringan tanaman dengan membentuk koloni pada jaringan tanpa menimbulkan efek merugikan pada inangnya (Murdiyah, 2017). Perhatian khusus terhadap fungi endofit adalah sejak ditemukannya metabolit sekunder *Paclitaxel* dari jamur endofit *Taxomyces andreanae* yang telah diisolasi dari *Taxus brevifolia* yang memiliki aktivitas sebagai anti-kanker dan telah digunakan sampai sekarang (Aly *et al.*, 2010)

Fungi endofit yang tumbuh dari jaringan tanaman mampu memproduksi metabolit yang serupa dengan tanaman inangnya dikarenakan terjadinya pertukaran *genetic evolutioner* antara tanaman

inang dan jamur endofit sehingga dapat meminimalisir penggunaan tanaman sehingga bisa dilestarikan (Kandou and Singkoh, 2018). Fungi endofit kaya akan senyawa kimia yang bisa dijadikan sumber obat baru, namun masih belum banyak yang meneliti jenisnya untuk sumber pengobatan (Wiese *et al.*, 2011). Fungi laut penelitiannya masih kurang dari 5 % (Bugni, 2004).

Untuk mengetahui aktivitas senyawa bioaktif yang terkandung dalam fungi endofit ekstrak alga merah *Eucheuma edule*, uji dilakukan dengan mengecek profil metabolit sekunder yang sama dari masing-masing fungi dengan identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kemudian untuk pengamatan lanjutan fungi endofit dari sampel alga merah *Eucheuma edule* diuji zona hambatnya terhadap aktivitas antibakteri dan antijamur secara spektrum luas dengan metode difusi cakram (Kjer *et al.*, 2010). Bakteri gram negatif yang digunakan adalah *Escherichia coli*, bakteri gram positif yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan salah satu golongan jamur patogen yaitu *Candida albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat fungi endofit yang bersimbiosis dengan alga merah *Eucheuma edule*?
2. Apakah hasil fermentasi fungi endofit dari alga merah *Eucheuma edule* memiliki diameter zona hambat sebagai antibakteri dan antijamur?

1.3 Tujuan

Berikut tujuan dari penelitian ini ada 2, yaitu:

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengeksplorasi fungi endofit yang bersimbiosis pada alga merah *Eucheuma edule* dan menguji alktivitas antibakteri dan dan antijamur fungi endofit.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Mengetahui potensi fungi endofit dari alga merah *Eucheuma edule*.
2. Mengetahui diameter zona hambat kertas cakram dalam pengujian antibakteri dan antijamur hasil fermentasi fungi endofit alga merah *Eucheuma edule*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (*Scientific*)

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait eksplor aktivitas antibakteri dan antijamur di bidang kefarmasian seputar sampel fungi endofit pada alga merah *Eucheuma edule*.

1.4.2 Bagi Pengguna (*Consumer*)

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai sumber informasi dalam penemuan aktivitas antibakteri dan antijamur fungi endofit alga merah *Eucheuma edule* dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara yang sebagai sumber penemuan obat baru.

1.5 Landasan Teori

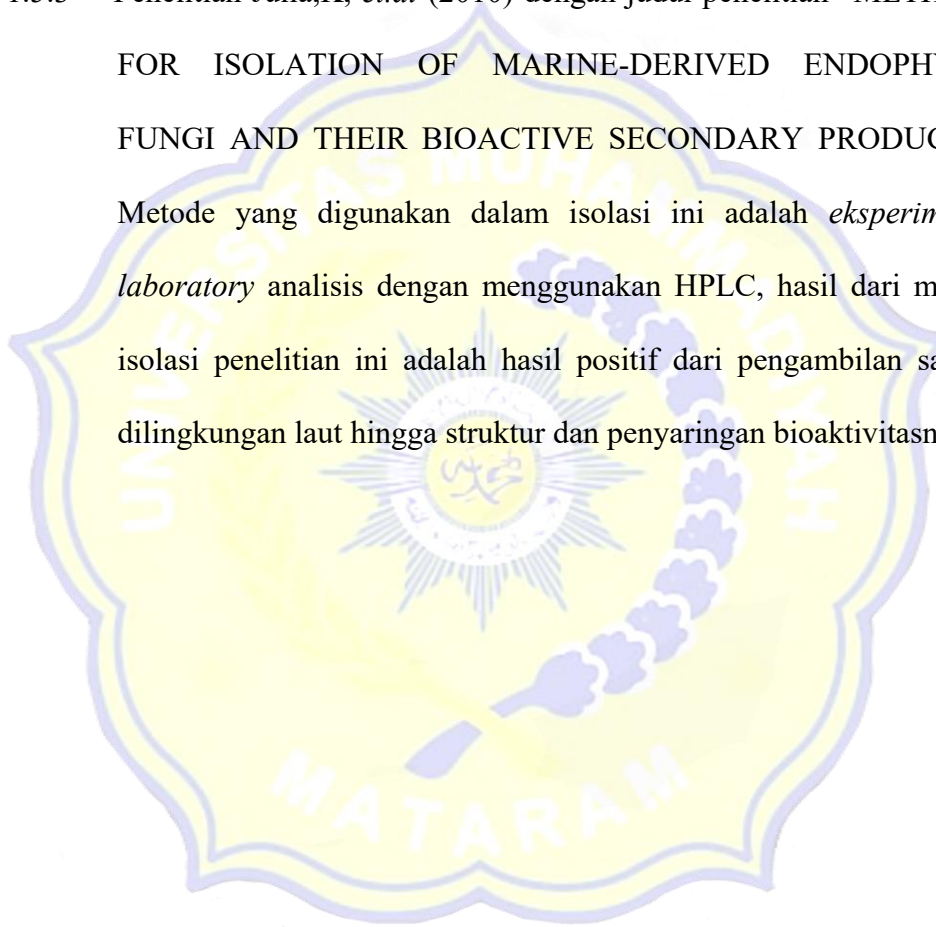
1.5.1 Penelitian Giovany E, dkk (2018) dengan judul penelitian “UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA JAMUR LAUT YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS *Phyllospongia lamellose*”

Penelitian ini dikerjakan dengan metode eksperimental laboratorium yang menguji aktivitas antimikroba dari jamur yang diisolasi dari spons *Phyllospongia lamellose*. Hasil penelitian jamur yang berasosiasi dengan spons *Phyllospongia lamellose* memiliki aktivitas antimikroba sedang terhadap *Staphylococcus aureus*, *Ercherchia coli*, dan kuat terhadap *Candida albicans*.

1.5.2 Penelitian Jessica Melanie, *et.al* (2021) dengan judul penelitian “ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF MARINE FUNGI FROM SPONGES AND BROWN ALGAE OF MAURITIUS”. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratory tujuan penelitian ini untuk menguji kandungan metabolit sekunder biokatif yang dihasilkan oleh jamur laut dari beberapa tanaman laut. Sampel terdiri dari tiga bunga karang *Haliclona sp.*, *Iotrochota sp.* dan *Biemna sp.* dan dua alga coklat *Turbinaria conoides* dan *Sargassum portierianum*, Hasil dari penelitian ini berupa dua belas jamur yang menunjukkan sifat antimikroba terbaik diidentifikasi sebagai *Peniophora sp.*, *Aspergillus cristatus*, *Acremonium sp.*, *Cordyceps memorabilis*, *Aspergillus ochraceus*, *Biscogniauxia sp.*, *Aspergillus keratitidis*, *Exserohilum rostratum*, *Chromocleista sp.*, *Nigrospora*

oryzae, *Aspergillus oryzae*. Hasil KHM terendah sebesar 0,0098 mg/mL diperoleh dengan *Chromocleista sp.*, ekstrak miselium terhadap *Staphylococcus aureus*. KHM dari ekstrak miselium lebih rendah dari ekstrak kaldu untuk sebagian besar isolat menunjukkan bahwa senyawa antimikroba tidak disekresikan.

- 1.5.3 Penelitian Julia,K, *et.al* (2010) dengan judul penelitian “METHODS FOR ISOLATION OF MARINE-DERIVED ENDOPHYTIC FUNGI AND THEIR BIOACTIVE SECONDARY PRODUCTS”. Metode yang digunakan dalam isolasi ini adalah *eksperimental laboratory* analisis dengan menggunakan HPLC, hasil dari metode isolasi penelitian ini adalah hasil positif dari pengambilan sampel dilingkungan laut hingga struktur dan penyaringan bioaktivitasnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Teori

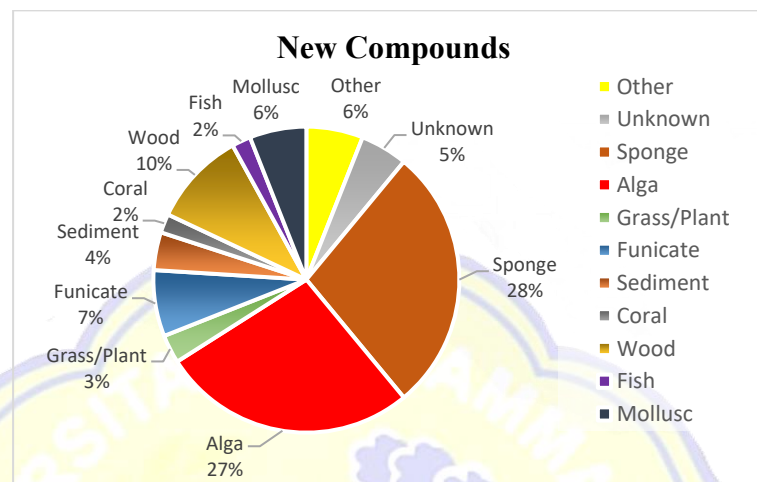
2.1.1 Biota Laut dan Potensi Keberadaan Fungi Laut Di Lombok

Biota laut yang tinggi merupakan sumber daya yang penting dalam bidang kefarmasian sebagai penghasil senyawa bioaktif yang sangat bernilai. Alga adalah salah satu jenis biota laut yang sangat beranekaragam jenisnya juga terdapat di Pulau Lombok tetapi masih sangat sedikit yang mengeksplorasinya sebagai pengembangan penelitian (Lalu Japa, Ahmad Raksun, 2018).

Keanekaragaman hayati laut yang tinggi sehingga hampir diseluruh pantai di Indonesia terdapat potensi alga. Alga banyak ditemukan di sekitaran Pantai Lendang Luar, Desa Malaka Kecamatan Pamenang, Kabupaten Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat (Pasappa, Pelealu and Tangapo, 2022). Potensi ekosistem biota laut sekitar 23,6 % di sekitaran pantai di Malaka (Haryawan, 2019).

Potensi keberadaan fungi laut berbagai jenis biota laut seperti spesies lamun, alga, *mangrove* terumbu karang dan lainnya terdapat di laut Lombok. Spesifiknya spesies alga ditemukan sekitar 22 jenis, dengan penyandang terbanyak di perairan Kaliantan Lombok Timur sekitar 11 spesies alga (Lalu Japa, Ahmad Raksun, 2018). Alga ini diketahui sebagai potensi keberadaan fungi endofit yang telah diteliti sebagai senyawa obat

baru. Penelitian Bugni (2004) menyatakan fungi laut yang dieksplorasi dari alga memiliki senyawa baru dengan kisaran 27% tertinggi kedua setelah spons.



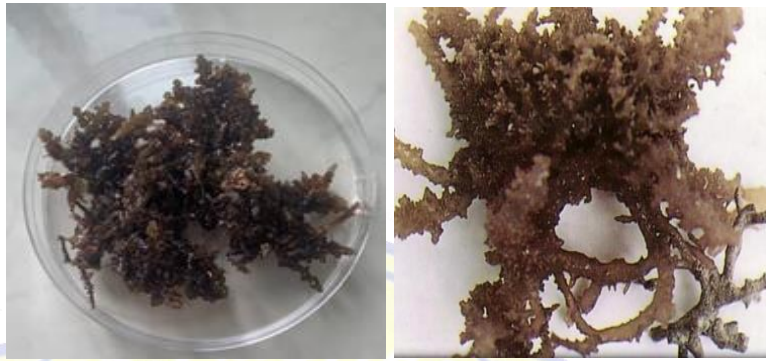
Gambar 2.1. Distribusi Senyawa Baru Biota Laut (Sumber: Bugni and Ireland, 2004)

2.1.2 Alga Merah *Eucheuma edule*

a. Morfologi

Alga merah atau *Rhodophyceaea* adalah makroorganisme dengan merah kerana memiliki protein fikobilin, terutama fikoeritrin warnanya bervariasi mulai dari merah hingga coklat kadang-kadang hijau dikarenakan jumlah *thallus* yang berbeda-beda. *Eucheuma edule* adalah salah satu jenis *Rhodophyceaea*. Alga dengan kombinasi merah kecoklatan ini hasil makanan cadangannya berupa karbohidrat. Karakteristik dengan warna kemerah-merahan, memiliki *thallus* bercabang, banyak selang-selingnya, berbentuk silindris, bagian tubuh berdaging, dinding sel terdiri dari selulosa dan gabungan pektik seperti agar-agar,

karaginan dan fusellarin (kemdikbud, 2013). Tekstur kaku dengan bintil-bintil duri yang besar mencuat kesamping dengan tekstur licin dengan panjang sekitaran 15-18 cm. (Cholid, 2005).



Gambar 2.2. Alga Merah *Eucheuma edule*

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2022 dan (Kkp.go.id, 2003)

b. Klasifikasi

Klasifikasi *Eucheuma edule* menurut (Cholid, 2005) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Kelas : Phaeophyyceae
 Ordo : Gigartinales
 Famili : Solieriaceae
 Genus : Eucheuma
 Spesies : Eucheuma edule

2.1.3 Fungi Endofit

Melimpahnya kandungan nutrisi menjadi pencetus tumbuhnya fungi di dalam jaringan inang. Fungi tumbuh ke dalam jaringan tanaman melalui proses masuknya benang hifa ke dalam akar melalui

rongga dalam sel epidermis sehingga mengakibatkan sel akar berlubang dan terjadi penetrasi hifa (Handayani, 2019).

Fungi endofit dengan tanaman inang menciptakan hubungan yang saling menguntungkan dengan menghasilkan senyawa untuk terlindung dari mikroba yang menyebabkan paparan penyakit dengan cara memproduksi metabolit yang serupa dengan tanaman inang, proses ini terjadi akibat adanya pertukaran *genetic evolutioner* antara tanaman dengan fungi endofitnya (Kandou *and* Singkoh, 2018) (Reckow, Widayat *and* Rijai, 2016). Senyawa-senyawa bioaktif yang dihasilkan fungi endofit memiliki aktivitas biologi seperti antioksidan, antikanker, antibakteri, antivirus, antifungi, antimalaria dan sebagainya (Rollando *et al.*, 2017).

2.1.4 Fermentasi Fungi Endofit

Fermentasi merupakan teknologi yang dapat memproduksi metabolit sekunder berharga seperti kebutuhan industri, farmasi, dan makanan. Fermentasi dipengaruhi oleh faktor pH, nutrisi, kelembapan, tingkat reduksi dan suhu. (Huang *et al.*, 2017). Fermentasi bekerja dengan menguraikan senyawa metabolit dari mikroorganisme untuk menghasilkan energi. Fermentasi merupakan cara untuk mendapatkan metabolit sekunder yang tinggi dari suatu endofit fungi (Hsieh *et al.*, 2021). Menurut metodenya, fermentasi dibedakan menjadi metode gerak dan metode diam. Metode gerak yaitu dengan digoyangkan menggunakan alat pengocok *rotary* sedangkan metode diam

menggunakan labu erlenmeyer sebagai wadah yang dидiamkan selama masa inkubasi tanpa ada guncangan (Kumala, 2014).

Berdasarkan jenis media, fermentasi dibagi menjadi dua (Kumala, 2014):

- a. Fermentasi media cair merupakan fermentasi dengan substrat yang larut dalam fase cair atau disebut fermentasi kultur terendam.
- b. Fermentasi media padat adalah fermentasi dengan substrat tidak larut air bebas, tetapi cukup mengandung air untuk keperluan mikroorganisme. Fermentasi media padat digunakan untuk produksi enzim dari fungi atau jamur endofit.

2.1.5 Metabolit Sekunder Fungi Endofit

Alga menghasilkan metabolit sekunder untuk mempertahankan diri (Kepel *and* Manitri, 2019). Perhatian khusus terhadap fungi endofit sejak ditemukannya metabolit sekunder *paclitaxel* dari jamur endofit *Taxomyces andreanae* yang telah diisolasi dari *Taxus brevifolia* yang memiliki aktivitas sebagai anti-kanker dan telah digunakan sampai sekarang (Aly *et al.*, 2010).

Fungi endofit dari tanaman laut sejenis alga kini mulai gencar dilakukan penelitian, alga merah dikenal sebagai sumber bioaktif metabolit sekunder. Zat yang diisolasi dari fungi endofit alga merah adalah alkaloid, poliketida, peptida, peptida, siklik, polisakarida,

phlorotannins, diterpenoid, sterol, kuinines, lipid dan gliserol (Srikong *et al.*, 2015). Kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak petroleum eter alga merah, adapun flavonoid, triterpenoid dan alkaloid (Mardiyah, 2014).

2.1.6 Aktivitas Metabolit Sekunder Fungi Endofit

Fungi endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif seperti antioskidan, antikanker, antibakteri, antijamur, antimalaria dan antivirus (Rollando *et al.*, 2017). Fungi endofit hidup secara intraseluler pada jaringan inang yang kemudian membentuk koloni yang melindungi inangnya (Murdiyah, 2017). Koloni ini melindungi inangnya dan menghasilkan bioaktif yang dapat membunuh pathogen (Andriani, 2015).

Aktivitas biologis fungi endofit ditemukan pada golongan senyawa seperti alkaloid, steroid, dan antrakuinon menunjukkan aktivitas biologis yang variasi tinggi seperti antitumor, antiinflamasi, dan antinfeksi (Patil and Maheshwari, 2016). Salah satu antibiotik yang diproduksi oleh fungi endofit ditemukannya pensisilin yang telah lama beredar dan digunakan masyarakat luas, setelah penemuannya kemudian ditemukan lagi bioaktif yang diisolasi dari golongan alkaloid, terpenoid, griseofulvin, poliketida dan trichothecena (Xu *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan dengan ditemukannya jamur laut *Nodulisporium sp.* KT29 yang diisolasi dari alga merah *Eucheuma edule* yang bersifat antibakteri terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dengan

menghasilkan 2 *spot* zona hambat yaitu 16 mm dan 13 mm pada Rf 0,94 dan 0,14 dengan Kromatografi Lapis Tipis (Hariati *et al.*, 2018)

2.1.7 Ekstraksi

Untuk mendapatkan hasil dari senyawa fungi endofit setelah fermentasi, maka perlu dilakukan ekstraksi. Ekstraksi adalah pemisahan berdasarkan komponen kimia dalam sampel bahan dari alam ke pelarut. Dalam hal ini fungi endofit akan dipisahkan komponen bioaktifnya dengan pelarut. Teknik ekstraksi yang biasa digunakan adalah teknik konvensional dengan cara maserasi, sokhlet dan destilasi. Pemilihan metode ini tergantung dari suhu, tekanan, getaran dan jenis pelarut (Haeria, 2016).

2.1.8 Antibakteri dan Antijamur

Antibakteri dan Antijamur merupakan hasil senyawa ekstraksi dari suatu komponen fungi endofit yang dapat menghambat dan mematikan pertumbuhan bakteri. Untuk mengetahui aktivitasnya penelitian menggunakan metode difusi dengan kertas cakram diukur dengan jangka sorong dengan prinsip kertas cakram diisi dengan senyawa uji. Kelebihan dari metode ini diantaranya murah, mudah, waktu efisien dan peralatan simple (Santoso, Utari and Marpaung, 2020).

2.1.9 Bakteri dan Jamur Uji

Pengujian menggunakan bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan golongan jamur yang menginfeksi manusia, bakteri yang digunakan antara lain : bakteri *Staphylococcus aureus* mewakili gram positif

Escherichia coli mewakili gram negatif dan *Candida albicans* mewakili golongan jamur.

a. *Escherichia Coli*

Escherichia coli banyak ditemukan dalam usus besar sebagai penyebab diare dan infeksi lainnya. *Escherichia coli* merupakan bakteri golongan gram negatif dengan ciri berbentuk batang pendek berdiameter 0,5 micrometer dengan panjang sekitar 2 micrometer. Bakteri ini hidup pada suhu 20-40 °C dengan suhu hidup pada 37 °C (Sutiknowati, 2016).

b. *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk lingkaran berdiameter 1 cm dan merupakan golongan bakteri gram positif fakultatif anaerob yang tumbuh pada suhu optimum 34 °C, menghasilkan pigmen berwarna keemasan (Sari and Al, 2018). bakteri ini penyebab infeksi nasokomial yang ditemukan pada hidung, tinja dan kulit pada orang dewasa (Manaroinsong, Abidjulu and Siagian, 2015).

c. *Candida Albicans*

Candida albicans adalah fungi berbentuk bulat lonjong, berukuran 3-14 μ , memiliki tekstur halus, licin dan berlipat-lipat dengan warna putih kuning dan berbau khas ragi. Fungi ini dapat hidup pada suhu 30-37 °C pada tepi koloni dilihat hifa semu. *Candida albicans* dapat bersifat patogen yang dapat menginfeksi mulut, vagina dan kulit (Keumala, 2016).

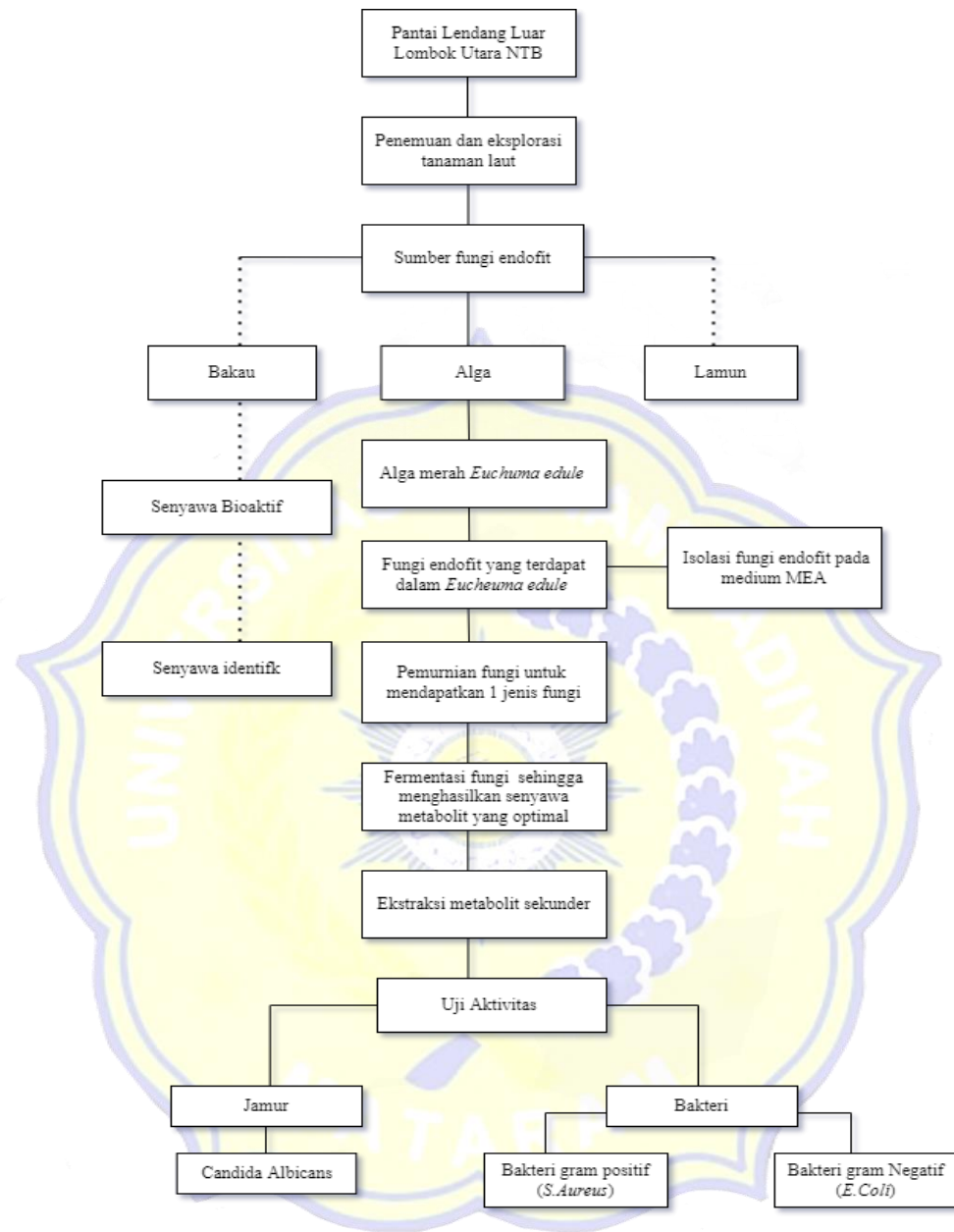
2.2 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1. Keaslian Penelitian Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah *Euclima edule* dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB

Penulis	Judul	Tahun	Metode Dan Hasil	Perbedaan Penelitian
Giovanny E. Payangan, Fati mawali, Henki Rotinsulu	UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA JAMUR LAUT YANG BERASOSIASI DENGAN SPONGIA PHYLLOSPONGIA LAMELLOSE	2018	metode eksperimental laboratorium yang menguji aktivitas antimikroba dari jamur yang diisolasi dari spons <i>Phyllospongia lamellose</i> . Hasil penelitian jamur yang berasosiasi dengan spons <i>Phyllospongia lamellose</i> memiliki aktivitas antimikroba sedang terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Ercherchia coli</i> , dan kuat terhadap <i>Candida albicans</i> .	Jenis sampel dari alga merah <i>Euclima edule</i> , dengan metode <i>true experimental design</i> , yang kemudian diuji zona hambatnya untuk mengetahui aktivitas fungi dengan teknik difusi cakram
Julia Kjer, Abdessamad	METHODS FOR	2010	Metode yang digunakan dalam	Hasil positif identifikasi alga laut

Penulis	Judul	Tahun	Metode Dan Hasil	Perbedaan Penelitian
Debbab, Amal H Aly & Peter Proksc	ISOLATION OF MARINE- DERIVED ENDOPHYTIC FUNGI AND THEIR BIOACTIVE SECONDARY PRODUCTS		isolasi ini adalah eksperimental laboratory analisis dengan menggunakan HPLC, hasil dari metode isolasi penelitian ini adalah hasil positif dari pengambilan sampel dilingkungan laut hingga struktur dan penyaringan bioaktivitasnya	dari uji sebelumnya menjadi acuan penelitian ini, secara spesifik mengidentifikasi senyawa fungi dari salah satu jenis sampel alga merah <i>Euचेuma edule</i> , dengan analisis KLT dan uji aktivitas
Jessica Mélanie Wong China , Daneshwar Puchooaa , Theeshan Bahorunb and Rajesh Jeewonc	ANTIMICROB IAL PROPERTIES OF MARINE FUNGI FROM SPONGES AND BROWN ALGAE OF MAURITIUS	2021	Eksperimental laboratorium dengan tiga sampel bunga karang, kemudian dilakukan karakterisasi isolat dengan amplifikasi dan analisis filogenetik. Sifat antimikroba kemudian ditentukan menggunakan difusi cakram dan konsetrasi hambat minimum (MIC) assay. Hasilnya Jamur laut dari perairan Mauritius memiliki potensi besar dalam pencarian produk alami untuk melawan bakteri resisten antibiotik.	Penelitian dengan satu jenis sampel diisolat kemudian dikarakterisasi dengan pengamatan secara mikroskopis, difermentasi kemudian dibuat ekstrak kering untuk menentukan sifat daya hambat sampel fungi.

2.2 Kerangka Teori



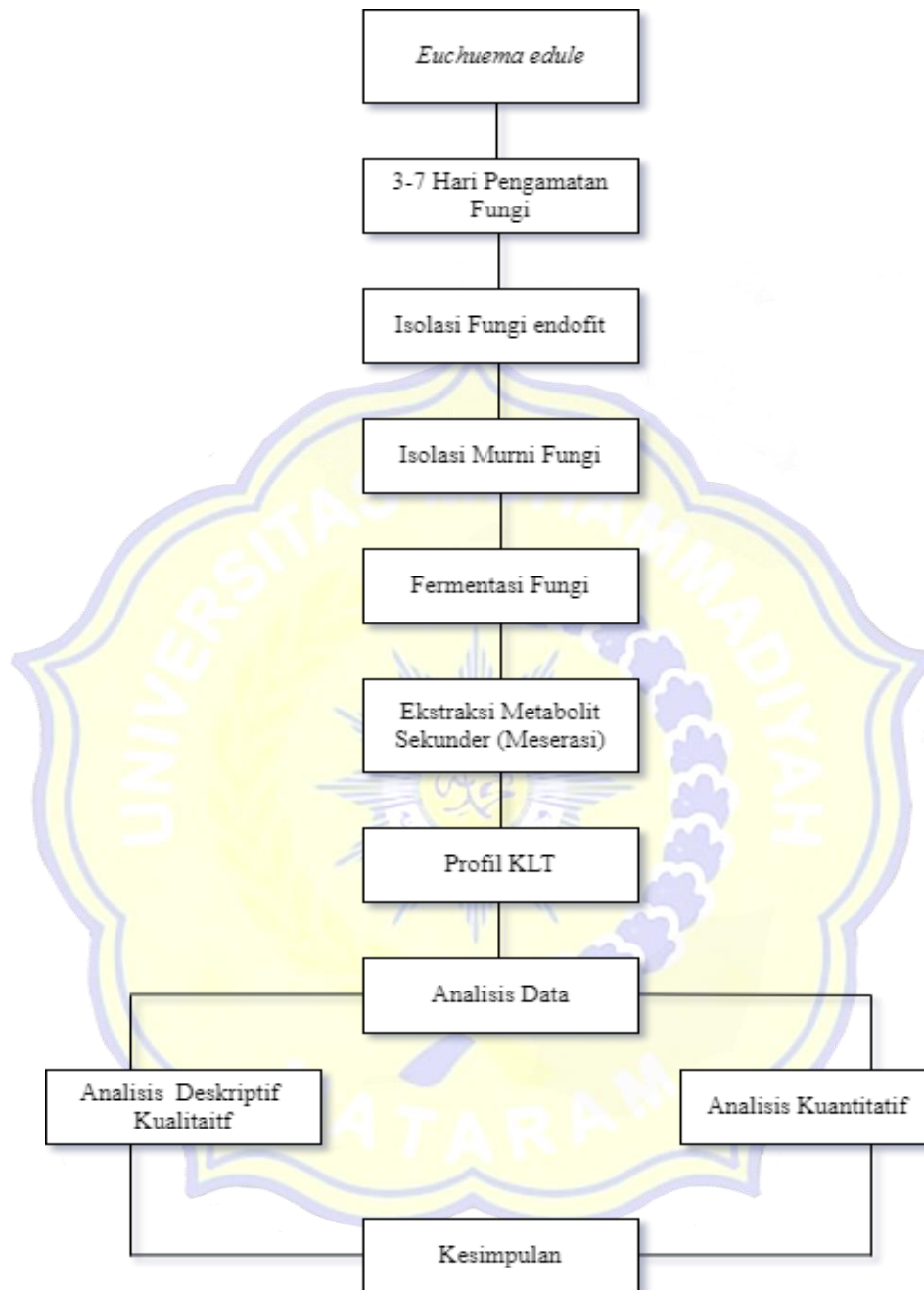
Keterangan :

———— = Diteliti

..... = Tidak diteliti

Gambar 2.3. Kerangka Teori Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah *Eucheuma Edule* Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB

2.3 Kerangka Konsep

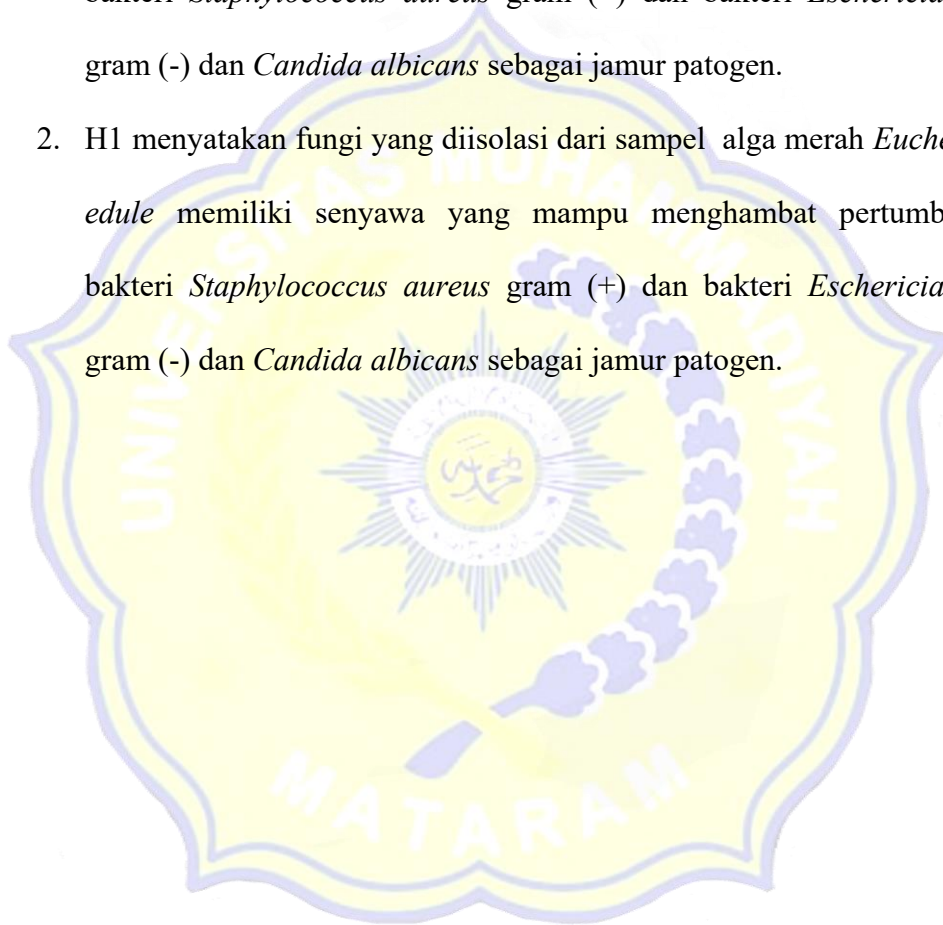


Gambar 2.4. Kerangka Konsep Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah *Eucheuma Edule* Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB

2.4 Hipotesis

Berdasarkan penjelasan dari kerangka teori dan kerangka konsep diatas, maka hipotesis penelitian ini, yaitu:

1. H0 menyatakan fungi yang diisolasi dari sampel alga merah *Eucheuma edule* tidak memiliki senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* gram (+) dan bakteri *Eschericia coli* gram (-) dan *Candida albicans* sebagai jamur patogen.
2. H1 menyatakan fungi yang diisolasi dari sampel alga merah *Euchemua edule* memiliki senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* gram (+) dan bakteri *Eschericia coli* gram (-) dan *Candida albicans* sebagai jamur patogen.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat *true experimental design* yang segala pengontrolan variable dilakukan di laboratorium dengan mencari data sebenarnya dari pelaksanaan penelitian. Penelitian dengan melihat aktivitas ekstrak fungi endofit yang diamati secara *in vitro* terhadap jaringan alga merah *Eucheuma edule*. Tahapan yang dilakukan yaitu dengan pengumpulan sampel alga merah *Eucheuma edule*, pembuatan media, isolasi dan pemurniaan, proses fermentasi untuk ekstraksi sari senyawa, pengamatan profil kromatografi ekstrak dan pengujian aktivitas antimikroba dengan hasil sebagai informasi baru terkait eksplorasi senyawa yang beraktivitas dari fungi endofit yang ditemukan dari alga merah *Eucheuma edule*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bahan alam, Laboratorium Steril Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Biologi Riset UIN Mataram. Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2022 sampai dengan Maret 2023.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel alga merah *Eucheuma edule*.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adanya aktivitas antibakteri dan antijamur dilihat berdasarkan diameter zona hambat pada kertas cakram dari ekstrak fungi endofit alga merah *Eucheuma edule*.

3.3.3 Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah waktu, tempat tumbuh, lama penyimpanan, kesterilan (suhu oven dan suhu autoklaf) yang dikendalikan dengan pengerjaan melalui *Laminar Air Flow* (LAF) yang sesuai dengan memakai alat pelindung seperti pemakaian *handskun*, masker, penutup kepala, jas lab dan kaca mata pelindung. Kemudian pada proses penelitian saat penanaman sampel dan untuk mengatasi adanya kontaminan dilakukan penambahan pelarut kloramfenikol pada media isolasi.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 *Eucheuma edule* adalah spesies alga merah yang secara *visualisasi* memiliki warna merah hingga kecoklatan dengan ciri khas seperti bentuk *finger* yang meruncing kebagian atas.

3.4.2 Fungi endofit atau disebut jamur laut adalah mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tanaman yang memiliki aktivitas yang sama dengan tanaman inang tanpa menimbulkan penyakit, sehingga terjadi hubungan saling menguntungkan antara tanaman dengan sel fungi yang tumbuh didalamnya.

3.4.3 Fermentasi adalah proses untuk mendapatkan sari senyawa metabolit sekunder yang cukup dari fungi endofit alga merah *Eucheuma edule* dengan menggunakan metode padat dengan wadah erlenmeyer berisi *solid rice* yang didiamkan selama penyimpanan tanpa goncangan.

3.4.4 Aktivitas antibakteri dan antijamur adalah melihat ada atau tidaknya daerah hambatan (zona jernih) pada pertumbuhan bakteri di media padat. Zona hambat berkategori lemah, sedang, kuat dan sangat kuat.

3.4.5 Metabolit sekunder adalah sari senyawa yang dihasilkan dari proses fermentasi ekstrak fungi endofit alga merah *eucheuma edule*.

3.4.6 Metode uji aktivitas antibakteri dan antijamur menggunakan metode difusi cakram atau disebut juga *Kirby-baeur* dengan parameter mengukur diameter zona hambat dari bakteri dan jamur patogen.

3.5 Populasi dan Sampel

3.5.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah alga merah *Eucheuma edule* dari perairan pantai Lendang Luar, Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat.

3.5.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah fungi endofit dari alga merah *Eucheuma edule* yang menghasilkan senyawa bioaktif hasil eksplorasi dari Pantai Lendang Luar, Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat.

3.6 Alat dan Metode Pengumpulan Data

3.6.1 Alat dan Bahan

- a. Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri steril, *aluminium foil*, kertas cakram, penggaris, jangka sorong, spidol, botol fermentasi, autoklaf, kertas jagung, aluminium foil, pipet tetes, *rotatry eevaporatory*, parafilm, erlenmeyer, pipet tetes, sendok tanduk, pH meter, LAF, autoklaf, kaca arloji, gunting steril, tisu steril, pinset, *mixer mill*, api bunsen, box kontainer, plat KLT, yellow tips, blue tips, mikropipet, kertas cakram, pisau steril, pinset, UV, botol vial, kertas cakram dan timbangan analitik.
- b. Bahan yang digunakan adalah sampel alga merah *Eucheuma edule* dari Pantai Lendang Luar, Lombok Utara, NTB, Nutrien agar (NA), ekstrak malt, *artificial sea salt*, Silika gel 60 F254, kloramfenikol, alkohol 70%, aquades, media padat fermentasi, etil asetat, methanol, diklorometana, bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan jamur *C.albicans*

3.6.2 Metode Pengumpulan Data

a. Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Pengambilan sampel yaitu dari Pantai Lendang Luar, Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat yang diambil pada pagi hari. Identifikasi sampel adalah alga merah jenis *Eucheuma edule*. Bagian tanaman yang diambil dari alga merah *Eucheuma edule* semua bagian tanaman. Selanjutnya tanaman dimasukkan ke dalam

box yang direndam dengan air laut agar kondisi alga masih segar sampai dilakukan penanaman di media (Kjer *et al.*, 2010).

b. Pembuatan media dan penanaman sampel

Sebelum proses penanaman fungi endofit tanaman alga merah *Eucheuma edule* yaitu menyiapkan media pertumbuhan *Malt Extract Agar* (MEA) yang bertujuan untuk penyimpanan jangka panjang. Sebelum proses pengerjaan, semua alat disterilisasi terlebih dahulu dengan proses pengerjaan menimbang NA sebanyak 15 gram, garam buatan 24,4 gram, ekstrak malt 20 gram dan menambahkan 1 liter aquades di *add* dan ditambahkan kloramfenikol 0,2 g/L yang lalu di mixer agar menjadi media. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 20 menit. Proses selanjutnya, yaitu penanaman sampel agar memastikan tidak ada kotoran, sampel dicuci bersih dengan air mengalir dipotong dengan ukuran 2 cm, selanjutnya dikerjakan di lemari LAF, disini sampel dicuci dengan aquades steril sambil disaring dengan alkohol selama 30 detik, lalu dibilas sebanyak 2 kali penyaringan dengan aquades steril bertujuan untuk membilas alkohol. Potongan sampel selanjutnya diletakkan pada tissue steril, kemudian ditanam dengan pinset ke dalam cawan petri. Setelah dilakukan proses penanaman, cawan petri ditutup rapat dengan parafilm, diberi label dan diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu

ruangan (20-25 °C) yang diamati pertumbuhan dari fungi setiap hari (Kjer *et al.*, 2010).

c. Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit

Isolasi fungi endofit dilakukan di LAF pada kondisi aseptis tujuannya untuk mencegah kontaminasi. Isolasi dilakukan dengan memotong bagian alga merah menjadi beberapa bagian pada cawan petri yang ditumbuhi fungi endofit dari ujung jarum ose secara hati-hati agar tidak bercampur dengan bagian yang lainnya, hal ini supaya tidak adanya 2 atau lebih fungi berbeda dalam satu media isolasi fungi. Untuk menentukan ada atau tidaknya fungi endofit pada media, yaitu dengan melihat hasil pemurniaan, jika terdapat fungi yang tumbuh maka ada karakteristik tersendiri yang dapat dilihat, biasanya berbentuk melingkar dengan warna dan tekstur yang berbeda pada cawan petri. Setelah semua fungi diisolasi, kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri lain yang berisi media MEA, ditutup rapat dengan parafilm kemudian diinkubasi selama 4-7 hari dengan suhu ruangan (20-25 °C). Siasat lain apabila dalam waktu tersebut ditemukan lebih dari 1 fungi, maka dilakukan isolasi berulang untuk memurnikan fungi. Jika dipastikan telah murni, kemudian inkubasi selama 7 hari hingga koloni fungi endofit memenuhi cawan petri. Sampel alga merah *Eucheuma edule*, ditargetkan terdapat 5-10 fungi berbeda secara *visual* dan warna (Kjer *et al.*, 2010).

d. Fermentasi Fungi Endofit dengan Media Padat

Fungi endofit yang telah diencerkan pada cawan petri lain kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer dengan komposisi; ekstrak MEA 15 g, Rice 1000 g dan *add aquades* 1.100 ml untuk pembuatan dalam jumlah besar, dalam 1 wadah fermentasi dengan komposisi MEA 1,5 g, rice 100 g, dan *add aquadest* 110 ml yang kemudian di *mixer* agar tercampur untuk dituangkan pada media padat untuk proses fermentasi fungi yang telah dimurnikan. Setiap media disterilkan dan ditutup menggunakan kapas wol dan aluminium foil yang selanjutnya disterilkan. Fungi yang tumbuh pada agar dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau steril dengan ukuran bebas yang kemudian di pindah ke erlenmeyer berisi media padat dengan spatula laboratorium steril. Kemudian erlenmeyer ditutup kembali dengan kapas wol dan aluminium foil, diaduk dan diinkubasi selama 3 minggu dengan suhu ruangan yang pengerjaannya dilakukan dalam LAF. Pengerjaan harus dengan api bunsen agar memastikan tidak ada kontaminasi. Proses fermentasi dilakukan dengan cahaya normal atau tanpa cahaya (Kjer *et al.*, 2010).

e. Ekstraksi Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Endofit

Setelah difermentasi \pm 1 bulan, hasil fermentasi diekstraksi secara maserasi. Ekstraksi metabolit sekunder fermentasi fungi dengan pelarut etil asetat, alasan penggunaan etil asetat adalah

karena mampu menarik senyawa polar maupun non polar etil asetat bersifat semi polar dapat lebih cepat untuk menyari senyawa dari fungi endofit. Ekstraksi secara maserasi dengan 3 kali pengulangan, jumlah pelarut ekstraksi yang digunakan untuk ekstraksi setiap fungi menyesuaikan dengan jumlah metabolit sekunder yang terekstraksi. Proses ekstraksi berakhir apabila pengamatan warna larutan sebelum dan setelah ekstraksi sama. Setelah beberapa saat pelarut dan kultur fungi terdapat 2 fase yang diekstraksi secara cair-cair untuk memisahkan pelarut etil asetat dan ekstrak dengan penyaringan pada corong pemisah. Setelah diekstraksi, larutan ekstrak dikumpulkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dalam suhu 30-37 °C. Ekstrak kering kemudian dimasukkan ke dalam botol vial (Kjer *et al.*, 2010).

f. Identifikasi Profil dari Kromatografi Ekstrak Menggunakan KLT

Untuk mengidentifikasi ekstrak yaitu, menggunakan profil KLT dengan *reversed phase system* dengan fase gerak campuran metanol dan diklorometana perbandingan (10/1) dan fase diam menggunakan silika gel 60 f₂₅₄. Profil hasil KLT diamati dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm serta dengan semprot H₂SO₄ agar profil KLT terlihat jelas. Profil kromatografi setiap fungi diamati, di ambil gambar dengan difoto. Hasil gambar setiap profil KLT ekstrak diamati dan dihitung nilai *Retardation factor (Rf)* untuk mengidentifikasi senyawa yang sama, dari identifikasi KLT

kemudian di skrining sederhana dengan pereaksi FeCl_3 untuk mengetahui potensi senyawa yang dimiliki (Kjer *et al.*, 2010).

Rumus Perhitungan R_f untuk setiap bercak warna:

$$R_f = \frac{\text{Jarak komponen}}{\text{Jarak pelarut}}$$

h. Peremajaan dan pembuatan suspensi mikroba uji

Peremajaan bertujuan untuk menyegarkan isolat mikroba yang diujikan dengan memanaskan jarum ose diatas lampu Bunsen, kemudian didinginkan. Biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose digoreskan pada permukaan NA untuk bakteri dan PDA untuk jamur dengan pola zig-zag atau goresan kuadran (*Streak quadrant*) secara vertikal kemudian cawan petri ditutup *parafilm* didekat api bunsen diberi label dan diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C untuk bakteri dan 25°C untuk jamur (Hengkengbala *et al.*, 2021).

Setelah 1 hari diinkubasi kemudian mikroba uji yang telah disegarkan selanjutnya dilanjutkan dengan pembuatan suspensi mikroba uji dengan media cair NB (*Nutrient Broth*) untuk menumbuhkan mikroba uji dengan mengambil satu titik dan diaduk pada media cair NB diinkubasi selama 1 hari, selanjutnya keberhasilan suspensi mikroba uji ditandai dengan adanya kekeruhan yang merupakan perbanyak sel mikroba uji (Wahyuni, 2016).

i. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antijamur

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer* atau difusi cakram berdasarkan modifikasi (Zakiah, Radiastuti and Sumarlin, 2016). Sebelumnya semua alat disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C. Selanjutnya buat media dengan mencampurkan suspensi uji dengan mikropipet sebanyak 10 µg/ hingga memadat. Kontrol positif antibakteri yaitu menggunakan cakram yang ditetesi kloramfenikol, untuk antijamur menggunakan Ketoconazole, karena keduanya merupakan antibiotik spektrum luas. dan kontrol negatif yang digunakan adalah cakram yang ditetesi aquades (Mukhlis, 2018). Sampel ditetaskan dengan dosis 10 µg/ml pada masing-masing kertas cakram dengan mikropipet ke dalam *petridish* yang telah diberi garis vertikal dan horizontal sebagai jarak antara sampel. Kemudian cawan petri di label kode sampel dan ditutup dengan parafilm diinkubasi selama 1x24 jam diamati selama 3 hari diukur zona hambatnya dengan penggaris.

3.7 Metode Pengolahan dan Analisis Data

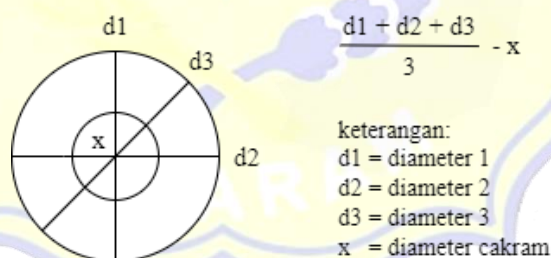
3.7.1 Metode Pengolahan Data

Pengumpulan data penelitian ini dengan menghitung zona hambat fungi endofit dari sampel alga merah *Eucheuma edule* untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antijamur pengujian. Bila ada lebih dari satu zona hambat yang memenuhi kategori, maka akan dibandingkan untuk menemukan zona hambat yang paling luas.

3.7.2 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil analisis berupa data kualitatif deskriptif, yaitu identifikasi ekstrak fungi endofit dikarakterisasi secara pengamatan langsung. Fungi endofit selanjutnya diseleksi profilnya dengan KLT untuk membandingkan fungsi yang sama. Pembedingnya hanya ekstraknya saja, apabila nilainya berdekatan maka merupakan fungi endofit yang sama (Slat, 2013). Data kuantitatif diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter pertumbuhan koloni diukur dengan Penggaris. Semakin besar zona bening menunjukkan bahwa fermentasi fungi endofit memiliki kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri ataupun jamur yang diujikan.

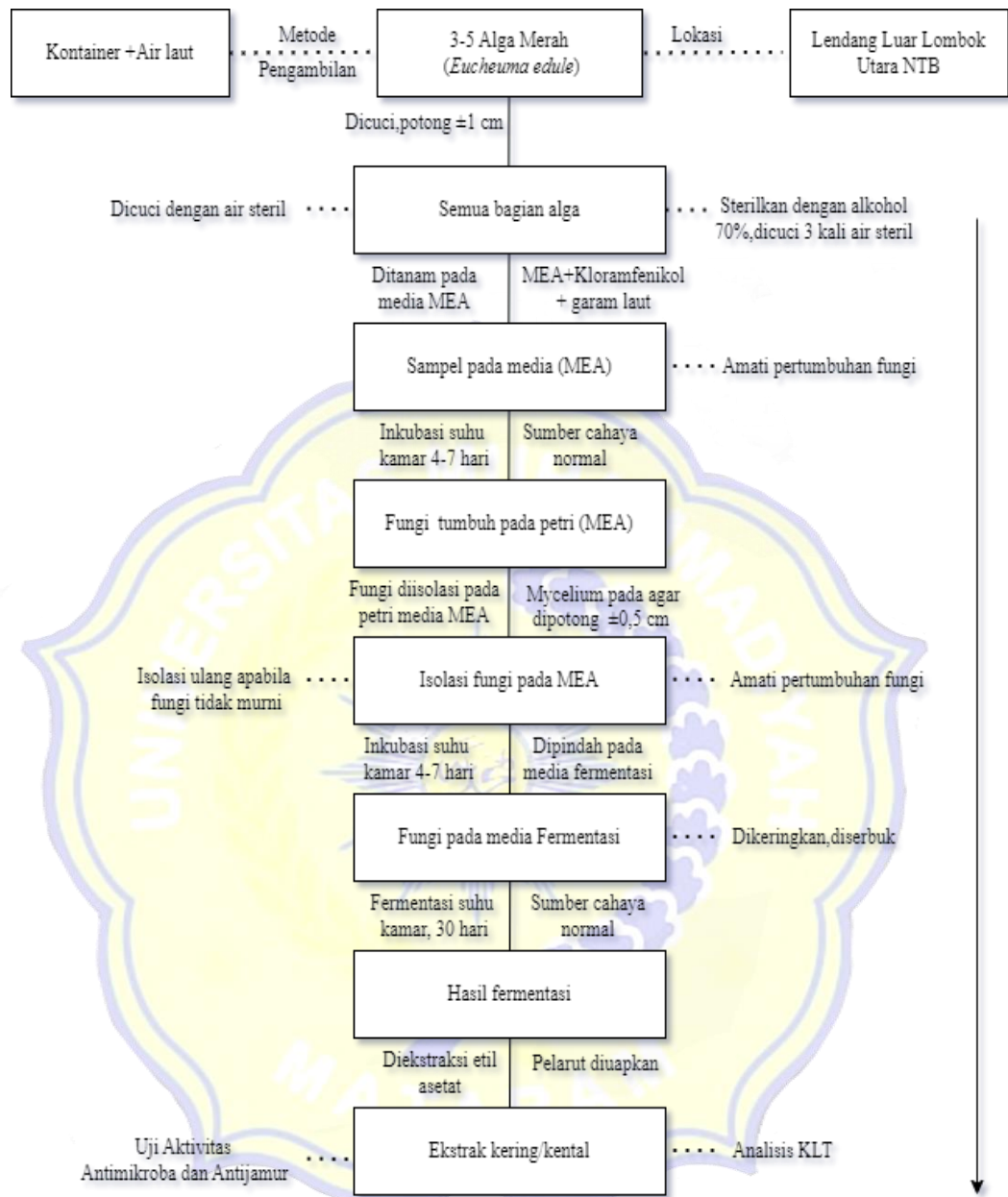
Menurut (Surjowardojo, Susilorini and Benarivo, 2015) dalam modifikasi (Warbung, 2013). Rumus yang digunakan untuk menghitung zona hambat uji antibakteri dan jamur sebagai berikut:



Gambar 3.1. Teknik Pengukuran Diameter Fungi
(Sumber : Matsui *Et Al.*, 2010)

Perhitungan luas zona hambat dikategorikan sangat kuat apabila diameter >20 mm, kategori kuat 11-20 mm, kategori sedang 6-10 mm, dan <5 dikategorikan lemah (Sudrajat *et al.*, 2012).

3.7.3 Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Metabolit Sekunder Hasil Fermentasi Fungi Alga Merah *Eucheuma Edule* Dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB