

RINGKASAN

Meningkatnya infeksi bakteri akibat penggunaan antibiotik berlebih telah memicu resistensi, sehingga terapi alternatif berkelanjutan dari ekstrak kapang endofit *Aspergillus* sangat menjanjikan, mengingat banyak penelitian yang membahas mengenai potensi *Aspergillus* sebagai antibakteri. Walaupun sejumlah penelitian telah mengkaji aktivitas antibakteri genus *Aspergillus*, studi terkait keanekaragaman genus ini pada daun *A. marina* masih terbatas, sedang daun merupakan habitat yang sangat potensial bagi mikroba dengan aktivitas bioaktif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies kapang endofit genus *Aspergillus* pada daun *A. marina* hingga tingkat molekuler serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC25922), dan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (ATCC43300).

Penelitian ini terdiri atas dua tahap utama, yaitu identifikasi dan pengujian aktivitas antibakteri pada 2 isolat *Aspergillus* dari daun mangrove *A. marina* koleksi laboratorium Biofarmasi-Laptiab, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Tahap identifikasi dilakukan dengan pengamatan fenotipik, molekuler (ITS1 dan ITS4), serta dilengkapi dengan skrining fitokimia. Uji aktivitas antibakteri dengan ekstrak etil asetat (EA) hasil fermentasi padat (*solid state fermentation*) meliputi uji difusi cakram, MIC, dan MBC. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah spesies isolat kapang, konsentrasi ekstrak, dan spesies bakteri uji, sedangkan variabel terikatnya adalah aktivitas antibakteri isolat kapang. Parameter utama meliputi kualitas, persentase kesamaan sekuens, zona hambat pada uji difusi cakram, serta nilai MIC dan MBC. Data identifikasi kapang dianalisis menggunakan *software* MEGA11 dan sumber literatur seperti buku *Identification of common Aspergillus species* (2002) dan beberapa jurnal pendukung, sedangkan data aktivitas antibakteri dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA pada taraf signifikansi 5%.

Identifikasi morfologi (fenotipik) dan molekuler yang didukung dengan skrining fitokimia menunjukkan bahwa isolat DAM3L2 teridentifikasi sebagai *A. sydowii*, sementara isolat DAM6L1 merupakan *A. flavus*. Ekstrak EA *A. sydowii* menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terutama terhadap bakteri gram positif dengan zona hambat 13,42 mm pada *S. aureus*, 8,165 mm pada *E. coli*, dan 11,763 mm pada MRSA, sedangkan *A. flavus* tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hasil MIC dan MBC serta IC50 secara berurutan dari ekstrak EA *A. sydowii* terhadap *S. aureus* adalah 97,6 µg/mL; 390,6 µg/mL; IC50 255,71 µg/mL, pada *E. coli* 195,3 µg/mL; 1562,5 µg/mL; IC50 959,75 µg/mL, dan pada MRSA 195,3 µg/mL; 781,25 µg/mL; IC50 490,63 µg/mL. Aktivitas antibakteri berasal dari senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenolik berdasarkan uji KLT bioautografi. Kemampuan *A. sydowii* dalam menghambat dan membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif menunjukkan potensinya sebagai antibiotik spektrum luas, namun untuk memastikannya diperlukan pengujian pada berbagai jenis bakteri lainnya. Dengan demikian, daun terbukti menjadi salah satu habitat potensial bagi kapang endofit yang memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: antibakteri, *Avicennia marina*, identifikasi molekuler, kapang endofit, MIC-MBC.

SUMMARY

The increasing incidence of bacterial infections due to the excessive use of antibiotics has triggered widespread resistance, highlighting the urgent need for alternative therapies. Endophytic fungi, particularly *Aspergillus* species, have shown promising antibacterial potential, as supported by numerous studies. However, despite some research on the antibacterial activities of *Aspergillus* genus, investigations into the diversity of these fungi on the leaves of *Avicennia marina* remain limited. Given that leaves represent a highly promising habitat for microbes with bioactive properties, this study aimed to identify *Aspergillus* endophytic species from *A. marina* leaves at the molecular level and evaluate their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC25922), and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (ATCC43300).

This study comprised two main phases: identification and antibacterial activity testing of two *Aspergillus* isolates obtained from *A. marina* mangrove leaves, sourced from the Biofarmasi-Laptiab laboratory collection at the National Research and Innovation Agency (BRIN). Identification was performed through phenotypic observation, molecular analysis using ITS1 and ITS4 regions, and phytochemical screening. The antibacterial activity of ethyl acetate extracts from solid-state fermentation was assessed via disc diffusion, *minimum inhibitory concentration* (MIC), and *minimum bactericidal concentration* (MBC) assays. Independent variables included fungal isolate species, extract concentration, and test bacterial species. Key parameters assessed were DNA quality, sequence similarity percentages, inhibition zones from disc diffusion, MIC, and MBC values. Data analysis was conducted using MEGA11 software and Relevant literature, such as *Identification of Common Aspergillus Species* (2002), was used for identification, with statistical evaluation of antibacterial activity performed by ANOVA at a 5% significance level.

Phenotypic and molecular identification supported by phytochemical screening revealed that isolate DAM3L2 was *Aspergillus sydowii*, whereas isolate DAM6L1 was *Aspergillus flavus*. The ethyl acetate extract of *A. sydowii* demonstrated strong antibacterial activity, particularly against gram positive bacteria, with inhibition zones of 13.42 mm for *S. aureus*, 8.165 mm for *E. coli*, and 11.763 mm for MRSA, while *A. flavus* showed no activity. MIC, MBC, and IC50 values of *A. sydowii* extract ranged from 97.6 µg/mL, 390.6 µg/mL, and 255.71 µg/mL for *S. aureus*; 195.3 µg/mL, 1562.5 µg/mL, and 959.75 µg/mL for *E. coli*; and 195.3 µg/mL, 781.25 µg/mL, and 490.63 µg/mL for MRSA, respectively. The antibacterial activity was attributed to alkaloids, flavonoids, and phenolic compounds detected by TLC bioautography. The ability of *A. sydowii* to inhibit and kill both Gram-positive and Gram-negative bacteria suggests its potential as a broad-spectrum antibiotic, although further testing on a greater variety of bacterial species is required to confirm this. Therefore, leaves have been proven to be one of the potential habitats for endophytic fungi that possess antibacterial activity.

Keywords: *antibacterial, Avicennia marina, molecular identification, endophytic fungi, MIC-MBC.*