

**KARAKTERISASI POLIFASIK KAPANG ASOSIASI
MANGROVE *Rhizophora mucronata* DENGAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*
DAN *E. coli***

SKRIPSI

EUGENIA PUTRI AYUNINGTYAS

26040119130139



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2023

**KARAKTERISASI POLIFASIK KAPANG ASOSIASI
MANGROVE *Rhizophora mucronata* DENGAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*
DAN *E. coli***

EUGENIA PUTRI AYUNINGTYAS

26040119130139

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Departemen Ilmu Kelautan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Karakterisasi Polifasik Kapang Asosiasi Mangrove
Rhizophora mucronata dengan Aktivitas Antibakteri
Terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E.*
coli.

Nama Mahasiswa : Eugenia Putri Ayuningtyas

Nomor Induk Mahasiswa : 26040119130139

Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/ Ilmu Kelautan

Mengesahkan,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota



Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si.
NIP. 19651110 199303 2 001



Drs. Ali Ridlo, M.Si.
NIP. 19660926 199303 1 001

Dekan

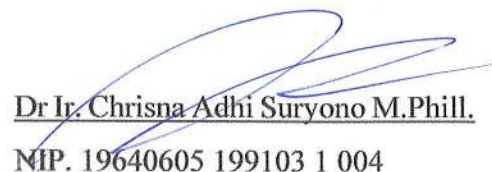
Ketua

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

Departemen Ilmu Kelautan



Prof. Irena Tri Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19650821 199001 2 001



Dr. Ir. Chrisna Adhi Suryono M.Phill.
NIP. 19640605 199103 1 004

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Karakterisasi Polifasik Kapang Asosiasi Mangrove
Rhizophora mucronata dengan Aktivitas Antibakteri
Terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E.*
coli.

Nama Mahasiswa : Eugenia Putri Ayuningtyas

Nomor Induk Mahasiswa : 26040119130139

Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/ Ilmu Kelautan

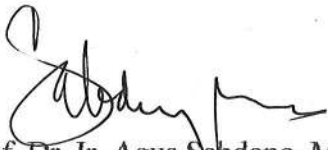
Skripsi ini telah disidangkan di hadapan Tim Penguji pada:

Hari/Tanggal : Selasa, 22 Agustus 2023

Tempat : Gedung J, FPIK UNDIP (Ruang J.403)

Mengesahkan,

Penguji Utama,



Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M. Sc.

NIP. 19580615 198503 1 001

Penguji Anggota,



Dr. Ir. Suryono, M.Sc.

NIP. 19601115 198803 1 002

Pembimbing Utama,



Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si.

NIP. 19651110 199303 2 001

Pembimbing Anggota,



Drs. Ali Ridlo, M. Si.

NIP. 19660926 199303 1 001

Ketua
Program Studi Ilmu Kelautan



Dr Ir. Chrisna Adhi Suryono M.Phill.

NIP. 19640605 199103 1 004

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya, **Eugenia Putri Ayuningtyas** menyatakan bahwa skripsi yang berjudul Karakterisasi Polifasik Kapang Asosiasi Mangrove *Rhizophora mucronata* dengan Aktivitas Antibakteri Terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* adalah asli karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah/skrpsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, 8 September 2023

Penulis,



Eugenia Putri Ayuningtyas

NIM. 26040119130139

ABSTRAK

(Eugenia Putri Ayuningtyas. 26040119130139. Karakterisasi Polifasik Kapang Asosiasi Mangrove *Rhizophora mucronata* dengan Aktivitas Antibakteri Terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Wilis Ari Setyati dan Ali Ridlo).

Infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* telah menjadi ancaman bagi kesehatan secara global. Antibiotik sintesis tidak lagi efektif untuk mengatasi infeksi bakteri, sehingga diperlukan sumber senyawa antibiotik baru yang aman bagi manusia, salah satunya adalah dari kapang asosiasi mangrove. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, melakukan uji antibakteri, dan melakukan karakterisasi kapang asosiasi mangrove *Rhizophora mucronata* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*, melalui pendekatan polifasik. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen yang dilakukan dalam lingkup laboratorium. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi sampling, isolasi dan purifikasi, uji antimikroba metode *agar plug*, karakterisasi morfologi, dan identifikasi molekuler dengan metode *DNA barcoding*. Sebanyak 32 isolat kapang berhasil diisolasi dari mangrove spesies *R. mucronata*, dengan 11 isolat diantaranya memiliki aktivitas antibakteri melawan bakteri uji. Hasil identifikasi molekuler memperlihatkan bahwa isolat MT.1 teridentifikasi sebagai *Cytospora thailandica*, MT.2 dan MT.3 teridentifikasi sebagai *Pestalotiopsis pinicola*, MT.8 teridentifikasi sebagai *Nigrospora aurantiaca*, MT.9 teridentifikasi sebagai *Nigrospora osmanthi*, MT. 14 teridentifikasi sebagai *Perenniporia subtrophopora*, MT.18 teridentifikasi sebagai *Pseudopestalotiopsis cocos*, MT.27 teridentifikasi sebagai *Gloniopsis leucaenae*, dan MT.28; MT.30 dan MT.32 teridentifikasi sebagai *Fusarium ngaiotongaense*. Penelitian ini menunjukkan bahwa kapang asosiasi mangrove *R. mucronata*, baik dari filum Ascomycota dan Basidiomycota, merupakan sumber senyawa antibakteri yang potensial.

Kata Kunci: antibakteri, kapang asosiasi, mangrove, polifasik, *Rhizophora mucronata*

ABSTRACT

(Eugenia Putri Ayuningtyas. 26040119130139. *Polyphasic Characterization of the Mangrove-Associated Fungi from Rhizophora mucronata with Antibacterial Activity Against B. subtilis, M. luteus, P. aeruginosa, and E. coli.* Wilis Ari Setyati and Ali Ridlo).

The infection caused by the bacteria Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli has become a global health threat. Synthetic antibiotics are no longer effective in combating bacterial infections, necessitating the discovery of new antibiotic compounds that are safe for humans, one potential source is mangrove-associated fungi. This research aims to isolate, perform antibacterial testing, and characterize the mangrove-associated fungi from Rhizophora mucronata for their antibacterial activity against B. subtilis, M. luteus, P. aeruginosa, and E. coli, using the polyphasic approach. The methodology employed in this study is experimental and conducted in the laboratory. The research encompasses several stages, including sampling, isolation and purification, antimicrobial testing using agar plug methods, morphological characterization, and molecular identification through DNA barcoding. A total of 32 fungal isolates were successfully obtained from the mangrove species Rhizophora mucronata, with 11 of them exhibiting antibacterial activity against the test bacteria. Molecular identification results revealed that isolate MT.1 was identified as Cytospora thailandica, MT.2 and MT.3 were identified as Pestalotiopsis pinicola, MT.8 was identified as Nigrospora aurantiaca, MT.9 was identified as Nigrospora osmanthi, MT.14 was identified as Perenniporia subtrophora, MT.18 was identified as Pseudopestalotiopsis cocos, MT.27 was identified as Gloniopsis leucaenae, and MT.28, MT.30, and MT.32 were identified as Fusarium ngaiotongaense. This research demonstrates that mangrove-associated fungi R. mucronata, from both the Ascomycota and Basidiomycota phyla, represent a potential source of antibacterial compounds.

Keywords: antibacterial, fungi, mangrove, polyphasic, Rhizophora mucronata

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena berkat-Nya, penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Karakterisasi Polifasik Kapang Asosiasi Mangrove *Rhizophora mucronata* dengan Aktivitas Antibakteri Terhadap *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*”. Skripsi ini ditulis dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana S1 pada Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.

Penulis telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak selama penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada:

1. Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si. dan Drs. Ali Ridlo, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan dan dukungan dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc. dan Dr. Ir. Suryono, M.Sc., selaku dosen penguji, yang telah memberikan saran dan perbaikan dalam skripsi ini.
3. Dr. Mada Triandala Sibero, S.Pi, M.Si., yang telah memberikan ide, mengenalkan kolaborator dan memberi masukan dalam penyusunan kerangka konsep proposal hibah penelitian ini.
4. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini, tidak lepas dari kesalahan dan kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk memperbaiki kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak yang membaca dan menggunakannya.

Semarang, 8 September 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Waktu dan Lokasi Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	7
2.2. Kapang Asosiasi Mangrove	8
2.3. Aktivitas Antibakteri dari Kapang Laut.....	9
2.3.1. <i>Bacillus subtilis</i>	10
2.3.2. <i>Micrococcus luteus</i>	11
2.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.3.4. <i>Escherichia coli</i>	13
2.4. Karakterisasi Polifasik Kapang.....	14
3. MATERI DAN METODE	17
3.1. Materi Penelitian	17
3.2. Alat dan Bahan.....	17

3.3. Metode Penelitian	19
3.4. Diagram Air Penelitian	19
3.5. Tahapan Penelitian.....	20
3.5.1. <i>Sampling</i>	20
3.5.2. Isolasi Kapang.....	21
3.5.3. Purifikasi Kapang.....	22
3.5.4. Uji Aktivitas Antibakteri Metode Agar Plug	22
3.5.5. Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis	22
3.5.6. Identifikasi Molekuler Metode DNA Barcoding	23
3.5.6.1. Ekstraksi DNA	23
3.5.6.2. Amplifikasi DNA.....	23
3.5.6.3. Elektroforesis	23
3.5.6.4. Sekuensing, dan Analisis	24
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1. Hasil.....	25
4.1.1. Isolasi dan Purifikasi.....	25
4.1.2. Uji Aktivitas Antibakteri Metode Agar Plug	25
4.1.3. Karakterisasi Makroskopis dan Mikroskopis.....	27
4.1.4. Identifikasi Molekuler Metode <i>DNA Barcoding</i>	29
4.1.4.1. Konfirmasi Spesies Melalui DNA	29
4.1.4.2. Rekonstruksi Pohon Filogenetik	30
4.2. Pembahasan.....	31
4.2.1. Isolasi dan Purifikasi.....	31
4.2.2. Uji Aktivitas Antibakteri Metode Agar Plug	32
4.2.3. Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis	34
4.2.4. Identifikasi Molekuler Metode <i>DNA Barcoding</i>	36
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1. Kesimpulan.....	42
5.2. Saran	42
6. DAFTAR PUSTAKA	43
7. LAMPIRAN	53
8. RIWAYAT HIDUP	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat Penelitian.....	17
Tabel 2. Bahan Penelitian	18
Tabel 3. Hasil Uji Antibakteri Metode Agar Plug	26
Tabel 4. Diameter Zona Hambat Uji Antibakteri	27
Tabel 5. Karakterisasi Makroskopis.....	28
Tabel 5. Hasil Identifikasi Spesies Isolat	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	7
Gambar 2. <i>Bacillus subtilis</i> Pada <i>Skimmed Milk Agar</i>	11
Gambar 3. Bakteri <i>Micrococcus luteus</i> pada <i>Agar</i> dan <i>Broth</i>	12
Gambar 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada <i>Nutrient Agar</i>	13
Gambar 5. <i>E. coli</i> Pada <i>MacConkey Agar</i>	14
Gambar 6. Diagram Mengenai Lokasi Primer Pada <i>Ribosomal Casette</i>	15
Gambar 7. Nama Primer dan Temperatur <i>Annealing</i>	16
Gambar 8. Diagram Alir Metode Penelitian	20
Gambar 9. Peta Lokasi Sampling.....	21
Gambar 10. Pohon Filogenetik Isolat	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode <i>Agar Plug</i>	54
Lampiran 2. Dokumentasi Pengamatan Makroskopis Isolat Aktif	57
Lampiran 3. Dokumentasi Pengamatan Mikroskopis Isolat Aktif.....	60
Lampiran 4. Visualisasi DNA.....	63
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	65