

NICHE Journal of Tropical Biology

Available online: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>

Isolasi bakteri endofit asal tumbuhan mangrove *Avicennia marina* dan kemampuannya sebagai antimikroba patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* secara *in vitro*

Isolation and *in vitro* antimicrobial abilities of endophytic bacteria from mangrove *Avicennia marina* against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*

Meutia Ananda Ramadhanty^a, Arina Tri Lunggani^a, dan Nurhayati^{a*}

^a *Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang 50275, Indonesia*

ABSTRACT

Avicennia marina is a mangrove species that has potential as an antimicrobial source. The potential of plants as antimicrobials is not only through bioactive compounds, but also through the endophytic microbes that live in them. This study aims to isolate endophytic bacteria from mangrove *Avicennia marina* and determine their ability as an antimicrobial against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* in *in vitro* condition. The sample of *Avicennia marina* used in this study collected from the Mangkang Mangrove Forest area of Semarang, the parts taken were the roots, stems and leaves. The research methods included isolation of endophytic bacteria, characterization of endophytic bacteria, preparation of tested bacterial cultures, test for antimicrobial activity of endophytic bacteria supernatant and ethyl acetate extract, and data analysis. This study used a Completely Randomized design, data were analyzed using one-way ANOVA and *Duncan's* test. The results of endophytic bacteria isolation showed that 3 endophytic bacterial isolates were obtained, namely AM1, AM2, and AM3, which morphologically presumed belongs to the genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., and *Staphylococcus* sp. respectively. The results of the antimicrobial activity test showed that the antimicrobial activity of endophytic bacteria in *Salmonella typhi* tended to be greater than in *Staphylococcus aureus*. The results also showed that ethyl acetate extract did not increase the formed inhibition zone.

Keywords: Antimicrobial activity, Avicennia marina, endophytic bacteria, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus

ABSTRAK

Avicennia marina adalah salah satu spesies mangrove yang memiliki potensi sebagai sumber antimikroba. Potensi tumbuhan sebagai antimikroba tidak hanya melalui senyawa bioaktif, melainkan dapat melalui mikroba endofit yang hidup di dalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari tanaman mangrove *Avicennia marina* dan menentukan kemampuannya sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* secara *in vitro*. Sampel *Avicennia marina* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari kawasan Hutan Mangrove Mangkang Semarang, bagian yang diambil adalah akar, batang, dan daun. Metode penelitian meliputi isolasi bakteri endofit, karakterisasi bakteri endofit, pembuatan kultur bakteri uji, uji aktivitas antimikroba supernatan bakteri endofit dan ekstrak etil asetat, dan analisis data. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan uji lanjut *Duncan*. Hasil isolasi bakteri endofit menunjukkan bahwa diperoleh 3 isolat bakteri endofit yaitu AM1, AM2, dan AM3, yang masing-masing secara morfologi diduga berasal dari genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp. Hasil uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba bakteri endofit pada *Salmonella typhi* cenderung lebih besar dibandingkan pada *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian juga menunjukkan ekstrak etil asetat tidak memperbesar zona hambat yang terbentuk.

Keywords: Antimikroba, Avicennia marina, bakteri endofit, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus

*Penulis korespondensi: rynatri7@gmail.com

I. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen. Penyebab penyakit infeksi dapat berupa bakteri atau cendawan. Bakteri yang umum menginfeksi manusia diantaranya adalah *S. aureus* dan *S. typhi*. *S. aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk kokus dan nonmotil yang banyak ditemukan pada infeksi kulit dan jaringan lunak (Bilung *et al.*, 2018). *S. typhi* atau *S. enterica* serotip typhi merupakan bakteri Gram negatif penyebab demam typhoid yang masih menjadi masalah dalam kesehatan masyarakat secara global (Barnett, 2016). Infeksi bakteri umumnya dapat diobati menggunakan antibiotik. Namun karena penjualan antibiotik, khususnya di negara-negara berkembang sangat bebas, mulai muncul resistensi bakteri terhadap antibiotik (Laxminarayan *et al.*, 2013). Alternatif lain dibutuhkan untuk menggantikan antibiotik sintetik dengan bahan alami.

Mangrove telah banyak diuji dan dinyatakan bersifat antiviral, antibakterial dan *anti-ulcer*. Metabolit sekunder seperti alkaloid, fenol, steroid dan terpenoid yang dihasilkan tumbuhan mangrove dinyatakan memiliki kepentingan toksikologi, farmakologi dan ekologi (Dhayanithi *et al.*, 2012). Salah satu jenis mangrove yang dapat dimanfaatkan adalah *Avicennia marina*. *A. marina* memiliki beberapa jenis bakteri endofit (Savitri *et al.*, 2016). Bakteri endofit memiliki kemampuan untuk mengkolonisasi jaringan tumbuhan secara sistematis dan mengembangkan hubungan simbiosis dengan tumbuhan inang, sehingga menjadikan bakteri endofit sebagai agen biokontrol yang efisien (Mohamad *et al.*, 2018). Bakteri endofit yang dapat ditemukan pada daun *A. marina* umumnya berasal dari tiga kelompok yaitu Gammaproteobacteria, Firmicutes dan Enterobacteria (Rahman *et al.*, 2019). Salah satu bakteri endofit yang dapat dimanfaatkan berasal dari kelompok Firmicutes yaitu *Bacillus megaterium*. *B. megaterium* dapat menghasilkan senyawa Oxetanocin yang dapat menghambat sintesis DNA virus hepatitis B (HBV) (Vary *et al.*, 2007). Penelitian Shimada *et al.* (1986) menjelaskan bahwa *B. megaterium* strain NK84-0218 menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, dan *B. polymyxa*.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan antimikroba bakteri endofit dari jenis mangrove *A. marina*, khususnya dari kawasan Hutan Mangrove Mangkang Semarang, terhadap mikroba patogen di bidang kesehatan seperti *S. aureus* dan *S. typhi*. Selain itu penelitian ini dilakukan sebagai upaya pengembangan potensi tanaman mangrove *A. marina* di kawasan Hutan Mangrove Mangkang Semarang dalam bidang pengobatan.

II. MATERI DAN METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di lokasi konservasi mangrove di Semarang, Jawa Tengah yaitu kawasan hutan mangrove Mangkang. Bagian *A. marina* yang diambil adalah daun, batang dan akar tanaman muda. Bagian yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam kantong sampel (*ziploc bag*) dan disimpan dalam *ice box*.

Persiapan Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Alat-alat yang tidak tahan panas tinggi akan disterilisasi menggunakan alkohol 70%. Media NA, NB, dan *Zobell Marine Agar* yang digunakan dibuat sesuai dengan ketentuan yang tertera pada kemasan media.

Sterilisasi Sampel

Bagian daun, batang dan akar *A. marina* yang telah diambil dicuci dengan air laut steril dan dikeringkan, lalu dipotong kecil menggunakan *cutter* steril kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan natrium hipoklorit 5% selama 5 menit, alkohol 70% selama 30 detik lalu dibilas dengan air laut steril 2 kali (modifikasi Ramalashmi *et al.*, 2018).

Isolasi Bakteri Endofit

Bagian daun, batang dan akar yang telah disterilisasi masing-masing direndam dalam tabung reaksi berisi 10 ml air laut steril dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C. Bakteri endofit yang tumbuh setelah masa inkubasi masing-masing diinokulasi sebanyak 1 ml pada media *Zobell Marine Agar* dengan metode *pour plate*. Cawan petri yang berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh pada tiap sampel masing-masing dikultur dengan metode *streak plate* ke dalam media *Zobell Marine Agar* dalam cawan petri untuk

dimurnikan. Bakteri yang tumbuh pada kultur murni dipindahkan sebanyak satu ose ke dalam media *Zobell Marine Agar* miring sebagai stok kultur bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Karakterisasi Bakteri Endofit

Karakterisasi bakteri endofit dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna, ukuran, bentuk, elevasi dan tepi koloni yang tumbuh. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati hasil pewarnaan Gram dibawah mikroskop.

Persiapan Kultur Bakteri Uji

Bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* dari kultur murni diremajakan pada media NA dalam cawan petri dengan metode *streak* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, sebanyak 1 ose isolat masing-masing bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl. Kekeruhan suspensi disetarakan dengan larutan standar McFarland 0.5. Standar McFarland 0.5 dibuat dengan menambahkan 0.05 ml BaCl₂ 1% ke dalam 9.95 ml H₂SO₄ 1% (Dalynn Biologicals, 2014).

Penentuan Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit

Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam 100 ml media NB, diinkubasi dalam *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam (modifikasi Wahyuningsih & Zulaika, 2018). Pengamatan dilakukan setiap 6 jam untuk mengukur *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 550 nm dan dibuat kurva pertumbuhan bakteri endofit (modifikasi Iqlima *et al.*, 2017).

Ekstraksi Isolat Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit diambil sebanyak 5 ml dan ditambahkan ke dalam Erlenmeyer berisi 15 ml media NB, kemudian isolat diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat bakteri endofit kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* 1,5 ml kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh disimpan dalam *microtube* dan digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba (modifikasi Dhanapathi, *et al.*, 2008). Ekstrak etil asetat dibuat dengan menambahkan etil asetat konsentrasi 100 ppm ke dalam supernatan bakteri endofit kemudian dihomogenkan menggunakan vortex agar tercampur sempurna. Ekstrak etil asetat yang diperoleh digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba.

Uji Antimikroba Supernatan Bakteri Endofit dan Ekstrak Etil Asetat

Uji aktivitas antimikroba supernatan bakteri endofit dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram 6 mm steril. Kertas cakram yang digunakan berjumlah 4 buah yaitu kertas cakram pertama berisi 30 μ l supernatan bakteri endofit, kertas cakram kedua berisi 30 μ l ekstrak etil asetat, kertas cakram ketiga berupa kontrol positif menggunakan Kloramfenikol 30 μ g/disk dan kertas cakram keempat kontrol negatif berupa kertas cakram kosong. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media NA padat yang sudah digoreskan bakteri patogen uji. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, zona hambat diamati dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong (modifikasi Mukhlis, dkk., 2018).

Analisis Data

Data hasil penelitian yang normal dan homogen akan dianalisa menggunakan metode *Analysis of Varian* (ANOVA) satu arah menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka akan dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Rastina, dkk., 2015).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat dan Karakter Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi berjumlah tiga isolat yang masing-masing berasal dari akar, batang dan daun, yaitu AM1, AM2, dan AM3. Hasil karakterisasi makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis, isolat AM1, AM2, dan AM3 diduga termasuk kedalam genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp. Ketiga genus tersebut dapat ditemukan pada *A. marina* selain karena nutrisi yang disediakan, juga karena kondisi lingkungan yang memadai karena genus

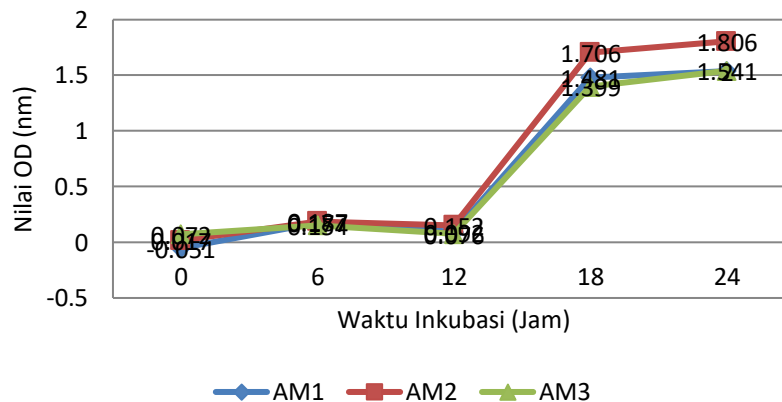
Pseudomonas, *Enterobacter*, dan *Staphylococcus* merupakan genus bakteri yang bersifat halofil (Ventosa, *et al.*, 1998; Gibtan, *et al.*, 2017). Selain itu ketiga genus tersebut telah diamati berhasil diisolasi dari tumbuhan *A. marina*. Dalam penelitian Rahman (2019) telah berhasil diisolasi 8 genus bakteri endofit dari daun *A. marina* yang meliputi *Klebsiella*, *Pantoea*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Virgibacillus*, *Staphylococcus*, dan *Bacillus*. Dalam penelitian lain milik Rismawati (2018) bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *A. marina* yakni *Klebsiella* sp., *Raoultella* sp., *Klebsiella oxycola*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas stutzeri*.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri endofit

Isolat	Makroskopis			Mikroskopis		
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Bentuk	Gram
AM1	Sirkuler	Translucent	Cembung	Irregular	Basil	-
AM2	Sirkuler	Putih susu	Cembung	Rata	Basil	-
AM3	Sirkuler	Translucent	Cembung	Rata	Kokus	+

Kurva Pertumbuhan

Berdasarkan kurva pertumbuhan (Gambar 1), bakteri endofit AM1, AM2 dan AM3 dipanen pada jam ke-24 saat pertumbuhan bakteri endofit berada di fase stasioner.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan isolat bakteri endofit mangrove *A. marina*

Gokulan *et al.* (2014) menyatakan bahwa bakteri yang menghasilkan metabolit sekunder umumnya mensintesis senyawa bioaktif dan molekul-molekul kompleks pada akhir fase eksponen hingga fase stasioner. Metabolit sekunder dihasilkan karena adanya beberapa rangsangan seperti kekurangan nutrisi, tekanan lingkungan, dan kondisi pertumbuhan yang terbatas.

Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit

Aktivitas antimikroba supernatan bakteri endofit ditandai dengan terbentuknya zona hambat setelah waktu inkubasi selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh supernatan bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 diukur dengan jangka sorong dan dikategorikan sesuai dengan kemampuan daya hambatnya. Susanto *et al.* (2012) menyatakan bahwa zona hambat dengan diameter >20 mm memiliki potensi antibakteri yang sangat kuat, diameter 11-20 mm berpotensi kuat, diameter 6-10 mm berpotensi sedang, dan diameter <5 mm berpotensi lemah. Berdasarkan hasil (Tabel 2), daya hambat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 terhadap *S. aureus* adalah sedang (intermediet), sedangkan daya hambat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 terhadap *S. typhi* secara berturut-turut adalah kuat (sensitif), sedang (intermediet), dan sedang (intermediet).

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat supernatan bakteri endofit terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. typhi*

Isolat	Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>
AM1	8,69 ^a	22,22 ^b
AM2	8,86 ^a	10,38 ^a
AM3	7,81 ^a	9,92 ^a

^{a, b} Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

Aktivitas antimikroba bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 diduga terjadi karena adanya senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang dapat bekerja sebagai antimikroba. Dalam penelitian Sankaralingam, *et al.* (2017), *Pseudomonas* sp. yang berhasil diisolasi dari tanaman mangrove bersifat antimikroba. Beberapa substansi mirip antibiotik telah diidentifikasi yaitu bakteriosin dan phenazine. Menurut Pierson dan Pierson (2010) Phenazine merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* sp. dan memiliki kemampuan antibiotik berspektrum luas. Selain *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp. juga dilaporkan dapat memproduksi bakteriosin. Bakteriosin adalah kelompok peptida heterogen yang bersifat antimikrobia. Cotter *et al.* (2013) menyatakan bahwa bakteriosin adalah protein atau peptida toksik yang dihasilkan oleh bakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang memiliki strain atau kedekatan relasi yang serupa.

Tabel 3. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat supernatan bakteri endofit terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *S. typhi*

Isolat	Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>
AM1	6,05 ^a	7,34 ^a
AM2	8,72 ^a	7,00 ^a
AM3	6,32 ^a	8,04 ^a

^{a, b} Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

Berdasarkan hasil (Tabel 3), daya hambat ekstrak etil asetat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 baik terhadap *S. aureus* maupun *S. typhi* adalah sedang (intermediet). Ekstrak etil asetat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 mampu menghasilkan aktivitas antimikroba namun dengan kemampuan daya hambat yang lebih lemah. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak etil asetat tidak dipurifikasi menggunakan *rotary evaporator*. Menurut Khunaifi (2010) *rotary evaporator* digunakan untuk memisahkan pelarut dan senyawa aktif yang terkandung dalam bahan yang diekstraksi. Tanpa dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* maka ekstrak yang diperoleh masih mengandung banyak pelarut. Selain itu konsentrasi etil asetat yang digunakan juga terlalu kecil, yaitu 100 ppm. Dalam penelitian Aljuraifani, *et al* (2019) konsentrasi minimum etil asetat yang diberikan pada supernatan bakteri endofit agar berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri patogen Gram positif adalah 125 ppm, sedangkan terhadap bakteri patogen Gram negatif adalah 250 ppm.

Berdasarkan hasil analisis ANOVA, aktivitas antimikroba supernatan dan ekstrak etil asetat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* karena nilai $p > 0,05$. Aktivitas antimikroba supernatan bakteri endofit dan ekstrak etil asetat bakteri endofit AM1, AM2, dan AM3 menunjukkan adanya perbedaan nyata terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. typhi* karena nilai $p < 0,05$.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, telah berhasil diisolasi 3 isolat bakteri endofit dari tanaman mangrove *A. marina*, masing-masing diduga berasal dari genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp., yang berpotensi memiliki kemampuan antimikroba. Ketiga isolat bakteri endofit memiliki kemampuan antimikroba yang tinggi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. typhi*. Aktivitas antimikroba menggunakan supernatan endofit dinyatakan lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* dan *S. typhi* dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Perlu dilakukan karakterisasi bakteri lebih lanjut mengenai bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman mangrove *A. marina* serta perlu dilakukan identifikasi kandungan metabolit sekunder untuk memastikan senyawa metabolit sekunder apa yang dihasilkan oleh bakteri endofit sehingga mampu berperan sebagai antimikroba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro dan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro yang telah menyediakan fasilitas berupa tempat dan alat dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aljuraifani, A., Sahar, A., & Ibtisam, A. (2019). In Vitro Antimicrobial Activity of Endophytes, Isolated from *Moringa peregrine* Growing in Eastern Region of Saudi Arabia. *National Academy Science Letters*. 42(1): 75–80. <https://doi.org/10.1007/s40009-018-0739-6>
- Barnett R. (2016). Typhoid fever. *Lancet*. 388 (10059): 2467. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32178-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32178-X)
- Bilung, L. M., Ahmad, S. T., Rosdi, K., Aina, A. M. R., & Kasing, A. (2018). High Occurrence of *Staphylococcus aureus* Isolated from Fitness Equipment from Selected Gymnasiums. *Journal of Environmental and Public Health*. 4592830. <https://doi.org/10.1155/2018/4592830>
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics?. *Nature Reviews. Microbiology*. 11(2): 95–105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
- Dalynn Biologicals. (2014). *Catalogue No. TM50-TM60*. Dikutip dari http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf
- Dhanapathi, T. G., Prabhakar & P. Prabhakar. (2008). Antibacterial activity of *Bacillus subtilis* extract on pathogenic organisms. *Tamil Nadu J. Veterinary & Animal Sciences*. 4(4): 150–153. <https://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/5810043318>
- Dhayanithi, N.B., Kumar, T. T. A., Murthy, R. G., & Kathiresan, K. (2012). Isolation of antibacterials from the mangrove, *Avicennia marina* and their activity against multi drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S1892–S1895. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60516-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60516-4)
- Gibtan, A., Kyounghee, P., Mingyeong, W., Jungkue, S., Dongwoo, L., Jaehak, S., Minjung, S., Seongwoon, R., Sangjae, L., & Hanseung, L. (2017). Diversity of Extremely Halophilic Archaeal and Bacterial Communities from Commercial Salts. *Front Microbiol*. 8: 799. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00799>
- Gokulan, K., Khare, S., & Cerniglia, C. (2014). Metabolic Pathways: Production of Secondary Metabolites of Bacteria in *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd Ed. Elsevier Ltd.: Academic Press, pp. 561–569. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00203-2>
- Iqlima, D., Puji, A., & Muhammad, A. W. (2017). Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit B_{2D} dari batang tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *JKK*. 7(1): 36–43. ISSN 2303-1077.
- Khunaifi, M. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Laxminarayan, R., Adriano, D., Chand, W., Anita, K. M. Z., Heiman, F. L. W., Nithima, S., Erika, V., Gabriel, L. H., Ian, M. G., Herman, G., Christina, G., Anthony, D. S., Maryam, B., Goran, T., Will, W., Eva, O., Arturo, Q. P., Farah, N. Q., Fatima, M., Sam, K., Zulfiqar, A. B., Anthony, C., Richard, B., Gerard, D. W., Eric, D. B., & Otto, C. (2013). Antibiotic resistance-the need for global solutions. *The Lancet. Infectious Diseases*. 13 (12): 1057–98. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70318-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9)
- Mohamad, O. A. A., Li, L., Jin-Biao, M., Shaimaa, H., Lin, X., Jian-Wei, G., Bakhtiyor, A. R., Yong-Hong, L., Brian, P. H. & Wen-Jun, L. (2018). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Endophytic Bacterial Populations From Chinese Traditional Medical Plant Licorice and Characterization of the Bioactive Secondary Metabolites Produced by *Bacillus atrophaeus* Against *Verticillium dahliae*. *Front Microbiol*. 9: 924. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00924>
- Mukhlis, D. K., Rozirwan, & M. Hendri. (2018). Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit pada Mangrove *Rhizophora apiculata* dari Kawasan Mangrove Tanjung Api-Api Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *MASPARI Journal*. 10(2): 151–160. <https://doi.org/10.36706/maspari.v10i2.5899>

- Pierson, L. S. 3rd. & Pierson, E. A. (2010). Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behaviour of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86:1659–1670. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2509-3>
- Rahman, S. A., Sukenda, S., Widanarni, W., Alimuddin, A. & Ekasari, J. (2019). Isolation and identification of endophytic bacteria from the mangrove leaves of *Avicennia marina* and evaluation of inhibition to bacterium causing ice-ice disease. *AAFL. Bioflux.* 12(3): 941–952. ISSN 1844-8143.
- Ramalashmi, K., Prasanna, V. K., Magesh, K., Sanjana, R., Siril, J. S. & Ravibalan, K. (2018). A potential surface sterilization technique and culture media for the isolation of endophytic bacteria from *Acalypha indica* and its antibacterial activity. *Journal of Medicinal Plants Studies.* 6(1): 181–184. <https://doi.org/10.22271/plants>
- Rastina, R. Sudarwanto, & I. Wientarsih. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp.. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 9(2): 185–188. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2842>
- Rismawati. (2018). Identifikasi Bakteri Endofit Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia marina*) dan Potensinya Menghasilkan Senyawa Anti Mikroba. *Skripsi.* Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Sankaralingam, S., Palpperumal, S., Kathiresan, D., Harinathan, B., Shankar, T., & Prabhu, D. (2017). Antifungal Activity of Mangrove Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* against Certain Phytopathogenic Fungi and its Growth Characterization. *American Journals of Current Microbiology.* 5(1): 9–18. <http://ivyunion.org/index.php/ajcmicrob/>
- Savitri, W.N., Maria, V.W., & Popy, H.H. (2016). Isolation and characterization of endophytic bacteria from the leaf explants of *Avicennia marina* (Forsk.). *Proceeding Seminar Nasional Biodiversitas VI.* pp. 702-714. ISBN: 978-979-98109-5-3.
- Shimada, H., Hasegawa, S., Harada, T., Tomisawa, T., Fujii, A. & Takita, T. (1986). Oxetanocin, A Novel Nucleoside from Bacteria. *The Journal of Antibiotics.* 38(11). <https://doi.org/10.7164/antibiotics.39.1623>
- Susanto, D. S. & Ruga, R. (2012). Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq.) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie.* 11(2): 181–190.
- Vary, P. S., Biedendieck, R., Fuerch, T., Meinhardt, F., Rohde, M., Deckwer, W., & Jahn, D. (2007). *Bacillus megaterium*—from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76: 957–967. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1089-3>
- Ventosa, A., Nieto, J. J., & Oren, A. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR.* 62(2): 504–544.
- Wahyuningsih, N. & E. Zulaika (2018). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media *Nutrient Broth* dan *Carboxyl Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains dan Seni ITS.* 7(2): E36–E38. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36283>