ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA SENYAWA DARI ENDOFIT *Ceratobasidium* sp. GALUR HCS-3 YANG DIISOLASI DARI TANAMAN *Houttuynia cordata* Thunb.

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2
Program Studi Farmasi Program Magister



diajukan oleh
Iwang Davi Setiawan
23924010

Kepada
PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM MAGISTER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2025

PERSETUJUAN

TESIS

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA SENYAWA DARI ENDOFIT *Ceratobasidium* sp. GALUR HCS-3 YANG DIISOLASI DARI TANAMAN *Houttuynia cordata* Thunb.

diajukan oleh:

IWANG DAVI SETIAWAN

21924016

Telah disetujui oleh pembimbing:

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Dr. apt. Asih Triastuti, M.Pharm	Dr. Amila Pramisandi, M.Farm

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA SENYAWA DARI ENDOFIT *Ceratobasidium* sp. GALUR HCS-3 YANG DIISOLASI DARI TANAMAN *Houttuynia cordata* Thunb.

Tesis

diajukan oleh:

IWANG DAVI SETIAWAN

21924016

Telah dipertahankan di Hadapan Panitia Tesis
Program Studi Farmasi Program Magister Jurusan Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 14 Februari 2025

Ketua Penguji	:	apt. Muhammad Hatta Prabowo, S.F., M.Si., P.hD.	(.....)
Anggota Penguji	:	Dr. apt. Asih Triastuti, M.Pharm.	(.....)
		Dr. Amila Pramisandi, M.Farm.	(.....)
		Dr. dr. Farida Juliantina Rachmawaty, M.Kes.	(.....)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

(Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.)

HALAMAN PERNYATAAN

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	:	Iwang Davi Setiawan
NIM	:	23924010
Tahun Terdaftar	:	2023
Program Studi	:	Magister Farmasi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Tesis ini tidak terdapat bagian karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara lengkap tertulis dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah Tesis ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, Februari 2025

Penulis



Iwang Davi Setiawan

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْـــــــــــــــمِ اللهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيْمِ

Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan? (Ar-Rahman: 16)

Wahai orang-orang yang beriman, apabila dikatakan kepadamu “Berilah kelapangan didalam majelis-majelis,” lapangkanlah, niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Apabila dikatakan, “Berdirilah,” (kamu) berdirilah. Allah niscaya akan mengangkat orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat. Allah Maha teliti terhadap apa yang kamu kerjakan (Al-Mujadalah: 11)

Dengan izin Allah SWT., Karya ini dipersembahkan untuk:

Orang-orang dari Allah yang Iwang cintai.

Ayah: Bapak Sugiyanto

Ibu: Indarti

Kedua Adikku: Fakhri dan Grahta

Kedua Dosen Pembimbing.

Dr. apt. Asih Triastuti, M.Pharm.

Dr. Amila Pramisandi, M.Farm.

Pusat Riset Mikrobiologi Terapan BRIN dan UII

Dan Seluruh pihak yang sudah terlibat dalam penelitian ini

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT karena atas ridho-Nya sehingga tesis saya yang berjudul "**Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa dari Endofit *Ceratobasidium* sp. Galur HCS-3 yang Diisolasi dari Tanaman *Houttuynia Cordata* Thunb.**" dapat disusun dan diselesaikan dengan baik. Penulisan tesis ini diajukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Berkenaan dengan hal tersebut, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. apt. Asih Triastuti, SF., M.Pharm. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dr. Amila Pramisandi, M.Farm. selaku pembimbing dan pendamping yang selalu memberikan arahan, ilmu, saran, dan motivasi selama penyusunan tesis ini.
2. Bapak apt. Muhammad Hatta Prabowo, S.F. M.Si., P.hD. dan Ibu Dr. dr. Farida Juliantina Rachmawaty, M.Kes. selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan untuk tesis ini.
3. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Bapak apt. Muhammad Hatta Prabowo, S.F. M.Si., P.hD. selaku Ketua Program Studi Farmasi yang telah memberikan dukungan dan fasilitas dalam penyusunan tesis ini.
4. Kedua orang tua, Bapak Sugiyanto dan Ibu Indarti serta adik-adik tercinta Muhammad Fakhri dan Grahta Gantara yang telah memberikan segala jenis dukungan dan doa.
5. Sahabat saya Fakrul, Akmal dan Zahrotun yang telah memberikan dukungan moral, material, dan doa. Seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tesis ini.
6. Penelitian ini didukung secara finansial oleh LPDP-RIIM yang telah membiayai penelitian ini. Peneliti mengucapkan terima kasih atas dukungan yang diberikan, yang telah memungkinkan terlaksananya penelitian ini.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, Januari 2025

Penulis,

Iwang Davi Setiawan

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL ix
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR LAMPIRAN xi
INTISARI xii
ABSTRACT xiii
BAB I 1
PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang Penelitian 1
1.2 Perumusan masalah 2
1.3 Keaslian dan kebaruan penelitian 2
1.4 Integrasi nilai keislaman dan sains data 3
1.5 Manfaat penelitian 3
1.6 Tujuan penelitian 4
1.1.4 BAB II 5
TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Tinjauan Pustaka 5
2.1.1 Houttuynia cordata 5
2.1.2 Endofit *Ceratobasidium* sp. Galur HCS-3 7
2.1.3 Teknik fermentasi untuk jamur endofit 10
2.1.4 Purifikasi senyawa dengan kolom kromatografi (*column chromatography*) 11
2.1.5 Identifikasi senyawa aktif dengan spektroskopi massa 11
2.2 Landasan Teori 12
2.3 Hipotesis 12
BAB III 13
METODE PENELITIAN 13
3.1 Alat 13
3.2 Bahan 13
3.3 Cara Penelitian 13

3.3.1 Kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 13
3.3.2 Ekstraksi kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 14
3.3.3 Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom 14
3.3.4 Isolasi dan purifikasi senyawa aktif 14
3.3.5 Identifikasi senyawa aktif 14
3.3.6 Pengujian aktivitas antimikroba 14
3.4 Analisis Hasil 16
3.5 Skema Penelitian 17
DAFTAR PUSTAKA 40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil analisis BLAST *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 7
Tabel 2.2 Sumber tanaman inang endofit *Ceratobasidium* sp.. 8
Tabel 2.3 Metabolit sekunder endofit *Ceratobasidium* sp. 9
Tabel 4.1 Bobot ekstrak optimasi media 18
Tabel 4.4 Hasil pengujian antimikroba ekstrak kultur dari media PDA dan PDB 20
Tabel 4.5 Bobot fraksi HPLC preparatif 21
Tabel 4.6 Hasil pengujiann fraksi ekstrak kultur media PDB terhadap mikroba uji 22
Tabel 4.7 Perbandingan area senyawa target dari ekstrak 5L ke-1 dan ke-2 24
Tabel 4.8 Hasil optimasi waktu panen kultur fermentasi endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB. 24
Tabel 4.9 Hasil bobot ekstrak *scale up* 5L ke-1, ke-2, dan ke-3 25
Tabel 4.10 Hasil pengujian antimikroba ekstrak hasil *scale up* 26
Tabel 4.11 Hasil fraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka 26
Tabel 4.12 Hasil uji antibakteri dan antijamur fraksi ekstrak kultur media PDB 27
Tabel 4.13 Bobot fraksi preparatif dan hasil uji antibkateri dan antijamur (purifikasi ke-1) 28
Tabel 4.14 Pemurnian senyawa lanjutan pada fraksi ekstrak 5L ke-1 dan ke-2 30
Tabel 4.15 Hasil pengujian antimikroba terhadap senyawa isolat 31
Tabel 4.17 Hasil purifikasi ekstrak 5L ke-3 32
Tabel 4.18 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat ke-3 dari ekstrak 5L ke-3 33
Tabel 4.19 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat ke-5 dari ekstrak 5L ke-3 34
Tabel 4.20 Hasil pengujian KHM dan KBM senyawa isolat dengan kemurnian 92,62% 35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 7
Gambar 2.2 Pohon filogenik *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 8
Gambar 3. 1 Skema Umum Penelitian 17
Gambar 3.2 Skema fraksinasi dan pemurnian 17
Gambar 4.1 Kromatogram HPLC Preparatif PDA dan PDB 19
Gambar 4.2 Hasil pembacaan sampel menggunakan HPLC analitik 23
Gambar 4.3 Grafik produksi senyawa target selama masa inkubasi kultur fermentasi 25
Gambar 4.4 Kromatogram HPLC preparatif fraksi aktif antimikroba 28
Gambar 4.5 Kromatogram HPLC analitik untuk perbandingan isolat nomor 6 dan 7 29
Gambar 4.6 Perbandingan profil kromatogram HPLC analitik isolat senyawa aktif dari *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3, isolat ke-1 hingga ke-7 30
Gambar 4.7 Perbandingan profil kromatogram HPLC analitik penggabungan fraksi ekstrak kultur *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3, isolat ke-1 hingga ke-7 31
Gambar 4.8 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat nomor 5 (RT 20,919) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 86,336% 32
Gambar 4.9 Perbandingan kromatogram hasil purifikasi senyawa aktif dari ekstrak 5L ke-3 33
Gambar 4.10 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat 3 (RT 20,903) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 86,678% 33
Gambar 4.11 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat 5 (RT 20,903) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 92,62% 34
Gambar 4.12 Hasil pengujian antibakteri dan antijamur terhadap senyawa isolat dengan kemurnian 92,62% 34
Gambar 4.13 Kromatogram UHPLC-HRMS pada ionisasi positif. A. Kromatogram, B. Spektrum MS senyawa isolat menunjukkan *m/z* 411,29 $[M+H]^+$ 36
Gambar 4.14 Kromatogram UHPLC-HRMS pada ionisasi negatif. A Kromatogram, B. Spektrum MS senyawa isolat menunjukkan *m/z* 409, 27 $[M-H|^-$ 37
Gambar 4.15 Perbandingan fragmentasi senyawa putatif *subersic acid* dengan *database* yang tersedia pada MS-Finder 38
Gambar 4.16 Struktur kimia *subersic acid* 38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses pembuatan media 47
Lampiran 2. Perkembangan endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 pada media PDA selama 12 hari 47
Lampiran 3. Inkubasi pada media PDB dengan fermentasi kocok 48
Lampiran 4. Perkembangan endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB 49
Lampiran 5. Proses ekstraksi 1L kultur endofit dalam media PDB 51
Lampiran 6. Proses ekstraksi kultur endofit dalam media PDB 52
Lampiran 7. Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka terhadap ekstrak etil asetat 53
Lampiran 8. Hasil tampungan fraksinasi menggunakan HPLC preparatif untuk frakasinasi *time dependent* 53
Lampiran 9. Proses pengeringan ekstrak dan fraksi 72
Lampiran 10. Pengeringan sampel menggunakan konsentrator (Sakuma EC-2000) 73
Lampiran 11. Hasil pengujian perkembangan kultur dan fraksi kolom terbuka pada *S. aureus.* 73
Lampiran 12. Hasil pengujian perkembangan kultur dan fraksi kolom terbuka pada *B. subtilis* 74
Lampiran 13. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *S. aureus* ...75
Lampiran 14. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *B. subtilis* ..75
Lampiran 15. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *C. albicans* 76
Lampiran 16. Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *S. aureus* 76
Lampiran 17. Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *B. subtilis* 76
Lampiran 18. Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *C. albicans* 77
Lampiran 19. Hasil fragmentasi *subersic acid m/z* 411,29 $[M+H]^+$ 78

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA SENYAWA DARI ENDOFIT *Ceratobasidium* sp. GALUR HCS-3 YANG DIISOLASI DARI TANAMAN *Houttuynia cordata* Thunb.

Iwang Davi Setiawan
Program Studi Magister Farmasi, Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta
Email: 23924010@students.uii.ac.id

INTISARI

Resistensi terhadap antimikroba merupakan kejadian yang sangat serius untuk ditangani. Hal tersebut terjadi ketika bakteri, virus, jamur, maupun parasit akan berubah seiring berjalannya waktu dan tidak dapat diobati lagi dengan obat-obatan standar. Perlu dilakukan inovasi penelitian pada sumber terbarukan yang memiliki prospek aktivitas farmakologi potensial, salah satunya yaitu jamur endofit. Salah satu endofit yang memiliki aktivitas antimikroba adalah *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari tanaman *Houttuynia cordata* Thunb. *(amis-amisan)*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan struktur senyawa aktif dari jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diisolasi dari tanaman *Houttuynia cordata*. Metode *bioassay-guided fractionation* dari ekstrak etil asetat kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dilakukan dengan kromatografi kolom. Fraksi yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antimikroba terhadap *Eschericia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*, dan *Candida albicans*. Senyawa aktif yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi dengan metode *Ultra High-Performance Liquid Chromatography-High resolution Mass Spectrometry* (UHPLC-HRMS). Dari penelitian ini didapatkan senyawa putatif *subersic acid* ($C_{27}H_{38}O_3$) dengan *m/z* 411,29 $[M+H]^+$ dan *m/z* 409,29 $[M-H]^-$ dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *B. subtilis* (KHM: 0,97 ppm; KBM 1,9 ppm), *S. aureus* (KHM: 7,81 ppm; KBM 15,63 ppm), dan *C. albicans* (KHM: 200 ppm; KBM 400 ppm).

Kata kunci: Antimikroba; *Houttuynia cordata* Thunb.; *Ceratobasidium* sp. Galur HCS-3; UHPLC-HRMS; *Subersic acid*.

ISOLATION, IDENTIFICATION, AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COMPOUNDS FROM FUNGAL ENDOPHYTE *Ceratobasidium* sp. STRAIN HCS-3 ISOLATED FROM *Houttuynia cordata* Thunb.

Iwang Davi Setiawan
Master of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta
Email: 23924010@students.uii.ac.id

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is a critical global health issue requires urgent attention. This phenomenon occurs when bacteria, viruses, fungi, or parasites undergo genetic changes over time, rendering standard treatments ineffective. Consequently, research innovations focusing on renewable and underexplored sources with promising pharmacological potential, such as endophytic fungi, are essential. One of the endophytic fungi known for its antimicrobial properties is *Ceratobasidium* sp. strain HCS-3, which is isolated from the *Houttuynia cordata* Thunb. The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity and identify the active compounds produced by the endophytic fungi *Ceratobasidium* sp. strain HCS-3. The bioassay-guided fractionation method was employed to extract and isolate active compounds from the fungus using ethyl acetate. Fractionation was conducted through column chromatography, and the resulting fractions were tested for antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Candida albicans*. The active compounds were characterized using Ultra High-Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-HRMS). The analysis revealed the presence of a putative *subersic acid* ($C_{27}H_{38}O_3$) with *m/z* 411.29 $[M+H]^+$ and *m/z* 409.29 $[M-H]^-$. The compound exhibited antimicrobial activity with the following Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) values: *B. subtilis* (MIC: 0.97 ppm; MBC: 1.9 ppm), *S. aureus* (MIC: 7.81 ppm; MBC: 15.63 ppm), and *C. albicans* (MIC: 200 ppm; MBC: 400 ppm). These findings suggest that *Ceratobasidium* sp. strain HCS-3 has potential as a source of bioactive compounds for developing new antimicrobial agents.

***Keywords**:* Antimicrobial; *Houttuynia cordata* Thunb; Fungal Endophyte; *Ceratobasidium* sp. Strain HCS-3; UHPLC-HRMS; *Subersic acid*.

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Indonesia mengalami peningkatan angka resistensi antibiotik dari tahun ke tahun, Peningkatan dimulai dari tahun 2013 hingga 2019 dari angka 40% hingga mencapai 60,4%. Hal tersebut terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak terkendali, yang disebabkan oleh tingginya angka penggunaan antibiotik tanpa resep dokter (Kemenkes RI, 2011). Sebagai contoh, data terkait resistensi *Ciprofloxacin* terhadap *urinary tract infections* (Infeksi saluran kemih) yang disebabkan oleh *E. coli* mengalami peningkatan dari 8,4% menjadi 92,2% (WHO, 2020). Hal tersebut merupakan dasar pentingnya penemuan agen antimikroba baru.

Peneliti bahan alam telah mulai berfokus pada penelitian yang terbarukan yang belum banyak tereksplorasi namun memiliki prospek sebagai penyedia keanekaragaman manfaat terapi/aktivitas biologis yaitu jamur endofit (Newman *and* Cragg, 2016; Triastuti, 2020; WHO, 2023). Jamur endofit tumbuh di dalam jaringan tanaman dan dapat melindungi tanaman dari infeksi organisme lain dan memunculkan simbiosis mutualisme antara tumbuhan dan jamur yang ada (Verma *et al.*, 2022).

Kemampuan endofit dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama/mirip dengan inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder (Ludwig-Muller, 2015). Apabila jamur endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang langka dan penting seperti yang dimiliki oleh tanaman inangnya, maka endofit dapat mengurangi ketergantungan terhadap sumber bahan baku dari tanaman inangnya. Dengan adanya hal tersebut keanekaragaman hayati yang ada dapat dipertahankan (Gonda, 2022).

Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan yaitu endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diisolasi dari *Houttuynia cordata* Thunb.. Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya terkait pengujian aktivitas endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata,* jamur tersebut memiliki aktivitas yang cukup baik dengan hasil KHM pada *E. coli* dan *S. aureus* sebesar 1,25% dan KBM pada sebesar 2,5% (Tamhid *et al.*, 2024). Penelitian ini akan mengisolasi senyawa aktif dari *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dan mengujinya terhadap mikroba patogen serta mengidentifikasi senyawa aktifnya menggunakan *Ultra High-Performance Liquid Chromatography-High resolution Mass Spectrometry* (UHPLC-HRMS).

1.2 Perumusan masalah

1.2.1 Bagaimana aktivitas antimikroba isolat senyawa dari jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata*?

1.2.2 Bagaimanakah struktur metabolit aktif *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* berdasarkan analisis UHPLC-HRMS?

1.3 Keaslian dan kebaruan penelitian

Penelitian terkait aktivitas jamur *Ceratobasidium* masih sangat terbatas, hanya ditemukan satu artikel ilmiah terkait dengan *Ceratobasidium* sp. yaitu jamur endofit *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM172 diisolasi dari *Curcuma manga* Valeton & Zijp. yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* dan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Proteus mirabilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* IBRL 0157, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Acinetobacter anitratus* (Rahman dan Ibrahim, 2020). Spesies *Ceratobasidium ramicola* lebih dikenal di antara genus yang lain dan merupakan fitopatogen pada beberapa tanaman hortikultura (Leiva *et al.*, 2023). Penelitian dengan *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM127 menggunakan media *yeast extract sucrose broth* menghasilkan aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dengan KHM 2,5 mg/ml (Rahman *and* Ibrahim, 2019). Penelitian lainnya yaitu pengujian antibakteri dari ekstrak endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* yang membuktikan adanya aktivitas antibakteri yang baik terhadap *S. aureus* dan *E. coli.* Penelitian tersebut menggunakan media PDA (media padat pada cawan petri berdiameter 9 cm) dengan inkubasi selama 14 hari (Tamhid *et al.*, 2024).

Pada penelitian kali ini fermentasi akan dilakukan menggunakan media cair menggunakan *Potato Dextrose Broth* (PDB) dengan masa inkubasi 7 hari. Selain itu, penelitian ini juga akan melakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif menggunakan UHPLC-HRMS dengan *bioassay-guided fractionation* terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* dan *C. albicans*.

1.4 Integrasi nilai keislaman dan sains data

Allah telah menciptakan segala yang ada pada alam semesta ini tanpa ada yang sia-sia.

ٱلَّذِينَ يَذْكُرُونَ ٱللَّهَ قِيَٰمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِى خَلْقِ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَٰذَا بَٰطِلًا سُبْحَٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ ٱلنَّارِ

"(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka." -Qs. Al-imran 191.

Selain itu salah satu ayat dalam Al-Quran dalam surat Ad-Dukhan ayat 38 yang berbunyi

وَمَا خَلَقْنَا السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لٰعِبِيْنَ

"Tidaklah Kami ciptakan langit, bumi, dan apa yang ada di antara keduanya secara main-main"

Ketika Allah menciptakan apapun yang ada di muka bumi ini, tidak terdapat satupun benda atau organisme yang tidak ada tujuannya untuk Allah ciptakan, salah satunya adalah jamur endofit. Endofit dapat dimanfaatkan khususnya sebagai obat. Para peneliti telah banyak berikhtiar dengan mengembangkan dan meneliti efek farmakologi dari endofit untuk kemaslahatan umat manusia. Salah satu endofit yang Allah ciptakan yaitu *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* yang berpotensi sebagai agen antimikroba.

Penentuan struktur putatif dari senyawa aktif *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dilakukan menggunakan UHPLC-HRMS dengan platform MS-DIAL dan MS-FINDER yang merupakan salah satu aplikasi sains data, menggunakan basis data dari KnapSack, HMBD, dan YMDB.

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Menambah pengetahuan baru tentang potensi jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diisolasi dari *Houttuynia cordata* sebagai antimikroba.

1.5.2 Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan terapi antimikroba.

1.5.3 Menjadi sebuah landasan untuk studi lanjutan baru tentang potensi jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diisolasi dari *Houttuynia cordata.*

1.6 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba isolat aktif kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* dan identifikasi senyawa aktif menggunakan *Ultra High-Performance Liquid Chromatography-High resolution Mass Spectrometry* (UHPLC-HRMS).

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 *Houttuynia cordata*

Houttuynia cordata (amis-amisan) merupakan tanaman yang tersebar luas di Asia tenggara (Fu *et al.*, 2013). *H. cordata* merupakan tanaman yang digunakan sebagai pengobatan tradisional serta memiliki aroma yang khas (Ye *et al.*, 2021). Bagian dari tanaman ini yang digunakan adalah daun dan akar muda (Liu *et al.*, 2022). *H. cordata* merupakan tanaman yang yang mudah tumbuh di tepi jalan, tanah yang berair atau lembab, lereng bukit, pada ketinggian 300-2600 mdpl, dan merupakan tumbuhan menahun yang melata, memiliki batang bulat, bergerigi, beruas-ruas, warna hijau keunguan (Fu *et al.*, 2013). Telah banyak dilaporkan aktivitas dari tanaman *H. cordata* di antaranya sebagai antivirus herpes simplex dan hepatitis (Hung *et al.*, 2015; Meng *et al.*, 2015; Chiow *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2019), antikanker HMGB1 (Lai *et al.*, 2010; Yanarojana *et al.*, 2017), analgetik (Shim *et al.*, 2009), antibakteri yang memiliki nilai KHM pada *S. aureus* ATCC 29213 sebesar 8 μg/mL (Yingxue *et al.*, 2022), MDR *E.coli* dengan KHM dan KBM 400 dan 500 mg/mL (Li Jiakui *et al.*, 2017).

2.1.1.1. Endofit yang diisolasi dari *Houttuynia cordata*

Terdapat beberapa penelitian yang telah berhasil mengisolasi endofit dari *H. cordata* yang berupa jamur dan juga bakteri. Endofit jamur yang berhasil diisolasi dari *H. cordata* diantaranya *Liriodendri* (YE *et al.*, 2021)*, Colletotrichum coccodes* (Talukdar *et al.*, 2021)*, Colletotrichum siamense, Colletotrichum fructicola, Colletotrichum capsica, Colletotrichum* sp.*, Colletotrichum acutatum, Colletotrichum dematium, Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., *Corynespora* sp., *Pseudozyma* sp. (Talukdar *et al.*, 2021), *Glomerella cingulate, Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum gloeosporioides f.* sp., *Colletotrichum truncatum A, Lasiodiplodia pseudotheobromae, Dothideomycetes* sp. *genotype 194 isolate* FL0015, *Fusarium solani* galur Neeraj-01, *Xylariales* sp. 13_PH (Aramsirirujiwet *et al.*, 2016), dan *Arthrinium* sp. (Yin *et al.*, 2023).

Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari *H. cordata* di antaranya *Bacillus amyloliquefaciens* galur CD2901, *Bacillus megaterium* galur 22, *Bacillus subtilis* galur B237, *Bacillus amyloliquefaciens* galur JNL, *Bacillus subtilis* galur HB9, *Bacillus pumilus HB29, Bacillus velezensis* galur JC-K3, *Bacillus subtilis* JCM 1465, *Bacillus*

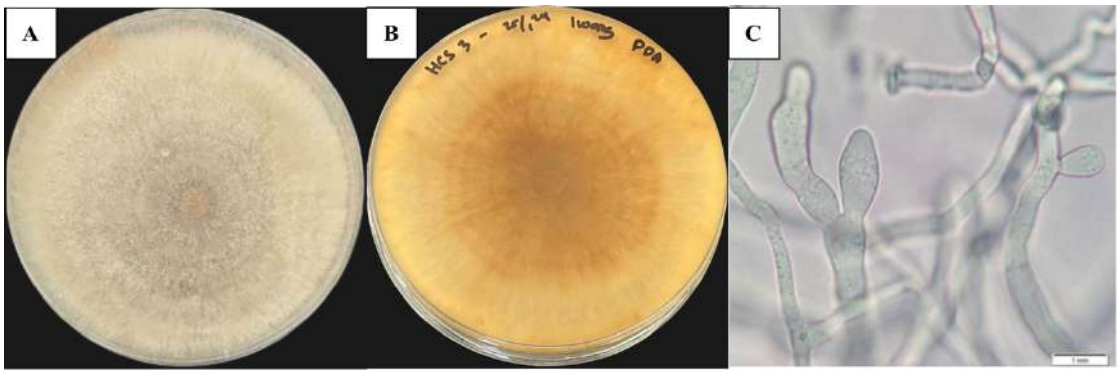
amyloliquefaciens MPA 1034, *Bacillus megaterium* ATCC 14581, *Bacillus amyloliquefaciens* galur CD2901, *Bacillus subtilis* galur LPB4, *Bacillus megaterium* galur 22 (Truong *et al.*, 2020), *Bacillus* sp. F21, *Bacillus thuringiensis* F41, *Enterobacter* sp. EP2 (Nongkhlaw and Joshi, 2015), *Bacillus* sp. F21 JX298807, dan *Streptomyces* sp. K15 (Chen *et al.*, 2015).

Terdapat beberapa penelitian terkait metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofit dari *H. cordata*. Endofit *Phyllosticta capitalensis* menghasilkan senyawa 1-octacosanol (Talukdar *et al.*, 2020). Endofit *Colletotrichum coccodes* menghasilkan dua senyawa diantaranya *Geranylgeraniol* dan *Farnesol* (Talukdar *et al.*, 2020). Endofit *Arthrinium* sp. menghasilkan senyawa *4-hydroxy-2-pyridone alkaloids furanpydone*, *N-hydroxyapiosporamide* dan *apiosporamide* (Yin *et al.*, 2023). Endofit *Colletotrichum coccodes* menghasilkan senyawa *Tyrosol* (Talukdar *et al.*, 2021). Sedangkan endofit *Bacillus subtilis* galur B237 menghasilkan *Octadecanoic acid, Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl), Docosanoic acid, ethyl ester, 2,5-Cyclohexadien-1-one, 3,5-dihydroxy-4,4-dimethyl, 4(1H)-Pyrimidinone, 6-amino-2-methyl-5-nitroso, Benzenemethanol, 3-hydroxy-5-methoxy, Hexadecanoic acid, ethyl ester, Pentadecanoic acid, ethyl ester, Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl), Diisooctyl phthalate, 2-pyrrol formic acid* (Truong *and* Hiep, 2020).

Ekstrak etil asetat yang dihasilkan dari endofit *C. coccodes* memiliki aktivitas terhadap antimikroba yang cukup potensial yang mana ekstrak etil asetat yang dihasilkan menunjukan aktivitas terhadap *C. albicans, S. aureus, E. coli* dengan KHM sebesar 125 µg/ml, dan pada *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 250 µg/ml (Talukdar *et al.*, 2021). Selain itu juga hasil pemurnian senyawa dari endofit tersebut menghasilkan senyawa tyrosol yang telah dilakukan studi molekuler *docking* memiliki afinitas pengikatan yang cukup kuat terhadap tRNA (TyrRS) dari *S. aureus* dan *E. coli* serta pada CYP45014α-lanosterol demethylase (CYP51) dari *C. albicans* (Talukdar *et al.*, 2021). Dari data tersebut terlihat potensi jamur endofit dari *H. cordata* sebagai penghasil metabolit sekunder yang aktif sebagai antimikroba.

2.1.2 Endofit *Ceratobasidium* sp. Galur HCS-3

Ceratobasidium sp. merupakan genus dengan ordo *Cantharellales* (Oberwinkler *et al.*, 2013). Genus *Ceratobasidium* merupakan anggota filum *Basidiomycota* yang di dalamnya termasuk *Cantharellales* dan *Ceratobasidiaceae* (Miyauchi *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan sebelumnya berhasil mengisolasi jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dengan cara mengoleksi daun dan batang dari tanaman *H. cordata* (koleksi dari PSOH Program studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia) (Tamhid *et al.*, 2024). Karakteristik morfologi dan mikorskopik *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 ditampilkan pada **Gambar 2.1**.

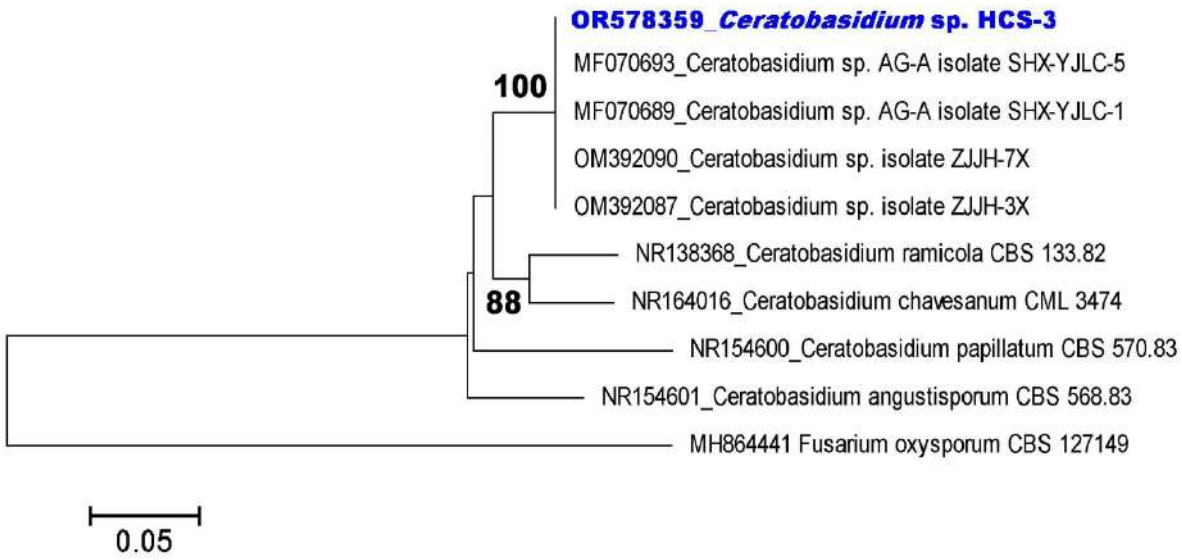


Gambar 2.1 Jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang dikulturkan pada media PDA selama 14 hari. *Keterangan: A: Tampak depan endofit; B: tampak belakang endofit dan C: Hasil pengamatan mikroskopik (400x)

Jamur *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 telah dianalisis secara molekuler dengan sekuen ITS seperti ditampilkan pada **Tabel 2.1** dan pohon filogeniknya pada **Gambar 2.2**.

Tabel 2.1 Hasil analisis BLAST *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 berdasarkan sekuens ITS rDNA menurut NCBI BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)

Nama Jamur	Nomor akses Genbank	Taksa terdekat 1 dan 2 pada NCBI BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)
HCS-3	OR578359	*Ceratobasidium* sp. AG-A isolate SHX-YJLC-5 (Accession no: MF070693) [Similarity: 100.00%; Max score: 1210; Total score: 1210; Query coverage: 100%; E-value: 0.0; Max identities: 655/655 (100%); Gaps: 0/655(0%)]
		Ceratobasidium sp. AG-A isolate SHX-YJLC-4 (Accession no: MF070692) [Similarity: 100.00%; Max score: 1210; Total score: 1210; Query coverage: 100%; E-value: 0.0; Max identities: 655/655 (100%); Gaps: 0/655(0%)]



Gambar 2.2 Pohon filogenik *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

Pemastian identitas jamur endofit sangat penting untuk memberikan jaminan kebenaran spesies yang digunakan dalam penelitian.

2.1.2.1 Penyebaran endofit *Ceratobasidium* sp.

Ceratobasidium sp. dapat hidup pada berbagai jenis tanaman **Tabel 2.2**. Hal ini menggambarkan keragaman inang dari *Ceratobasidium* sp.

Tabel 2.2 Sumber tanaman inang endofit *Ceratobasidium* sp.

Inang	Galur	Referensi
Centella asiatica	*Ceratobasidium* sp.	(Radiastuti *et al.*, 2019)
Platanthera leucophaea	*Ceratobasidium D.P.* Rogers	(Thixton *et al.*, 2020)
Dendrobium nobile Lindl.	*Ceratobasidium*	(W. Chen *et al.*, 2023)
Rehmannia glutinosa	*Ceratobasidium* sp.	(Chen *et al.*, 2011)
Phalaenopsis amabilis	*Ceratobasidium* sp.	(Mahfut *et al.*, 2020)
Dipsacus asperoides	*Ceratobasidium* sp.	(Gong *et al.*, 2019)
Richoceros antennifer	*Ceratobasidium* sp.	(López *et al.*, 2021)
Phaseolus vulgaris	*Ceratobasidium* sp. (AG-A *and* AG-G)	(Collina *et al.*, 2016)
Anoectochilus roxburghii	*Ceratobasidium* sp.	(Zhang *et al.*, 2020)
Gymnadenia conopsea	*Ceratobasidium* GS2	(Shi *et al.*, 2023)

2.1.2.2 Metabolit sekunder *Ceratobasidium* sp.

Penelitian terkait metabolit yang dihasilkan oleh *Ceratobasidium* sp. masih terbatas. Hasil penelitian dapat dilihat pada **Tabel 2.3.**

Tabel 2.3 Metabolit sekunder endofit *Ceratobasidium* sp.

Nama Endofit	Inang	Metode identifikasi senyawa	Metabolit	Referensi
Ceratobasidium sp.	*Anoectochilus roxburghii*	HPLC-MS/MS	nobiletin	(Zhang *et al.*, 2020)
			narcissin	
			isorhamnetin-3-O-beta-d-glucoside	
			isorhamnetin-3-O-beta-d-glucoside	
			rutin	
			quercetin	
			isorhamnetin	
			quercetin-7-O-glucoside	
			kaempferol-3-O-glucoside	
Ceratobasidium GS2	*Gymnadenia conopsea*	NMR	β-sitosterol	(Shi *et al.*, 2023)
			Stigmast-4-ene-6β-ol-3-one	
			Stigmast-4-ene-6α-ol-3-one	
			β-Hydroxystigmast-5-en-7-one	
			β-hydroxy-stigmasta-4,22-diene-3-one	
			E-7α-methoxy-5α,6α-epoxyergosta-8(14),22-dien -3β-ol	
			β-acteoxy-(22E,24R)-24-methyl-5α-cholest-7,22-diene -5,6β-diol	

2.1.2.3 Aktivitas endofit *Ceratobasidium* sp.

Sejauh ini, *Ceratobasidium* sp. menunjukkan aktivitas biologi sebagai antimikroba. *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM172 dari *Curcuma manga* Valeton & Zijp memiliki aktivitas penghambatan terhadap 11 bakteri. Pengujian pada empat bakteri Gram positif (*S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* dan *Methicillin resistance Staphylococcus aureus* ATCC 33591) menunjukkan zona hambat yang cukup besar dengan ukuran zona hambat ≥21 mm. Sedangkan pada pengujian terhadap bakteri Gram negatif (*Proteus mirabilis*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* IBRL 0157, *S. typhimurium*, *Klebsiella*

pneumoniae ATCC 13883 dan *Acinetobacter anitratus*) menunjukkan zona hambat sebesar ≥21 mm (Rahman *and* Ibrahim, 2020). Hasil pengujian KHM dan KBM dari ekstrak etil asetat endofit *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM172 pada bakteri Gram positif dan negatif yang diujikan berkisar antara 125-500 µg/mL (Rahman *and* Ibrahim, 2020). Pengujian aktivitas pada *C. albicans* menunjukan hasil KHM 2,5 mg/mL (Rahman *and* Ibrahim, 2019). Hal ini menunjukkan potensi *Ceratobasidium* sp. sebagai antimikroba.

2.1.3 Teknik fermentasi untuk jamur endofit

Fermentasi merupakan salah satu bagian dari teknik bioteknologi yang menggunakan mikroorganisme sebagai pemeran utama dalam suatu proses. Sistem fermentasi dan faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap hasil yang didapatkan (Kavanagh, 2005). Terdapat tiga sistem fermentasi yang umum digunakan yaitu:

a. Solid fermentation

Solid fermentation atau fermentasi padat dilakukan ketika mikroba dapat tumbuh pada substrat yang padat seperti pada biji-bijian dan tidak menggunakan air dalam media tersebut. Sistem ini dapat digunakan apabila mikroba mampu beradaptasi dengan lingkungan yang memiliki kadar air yang minim (Sayed *et al.*, 2024).

b. Batch fermentation

Batch fermentation atau fermentasi dengan sistem tertutup (*closed system*) merupakan sistem di mana substrat nutrien dan mikroorganisme ditambahkan secara bersamaan dan tidak dihilangkan sampai proses fermentasi selesai. Sistem ini merupakan proses paling sederhana dan umumnya digunakan oleh masyarakat (Sharma *et al.*, 2021). Proses optimalisasi proses fermentasi ini dapat dicapai dengan pengaturan kondisi pertumbuhan seperti pH, suhu, cahaya, serta komposisi media. Sistem ini dapat dilakukan dalam uji coba skala kecil di laboratorium (Sharma *et al.*, 2021; Ahsan *et al.*, 2022)

c. Continuous cycle fermentation

Sistem siklus berkelanjutan merupakan sebuah sistem fermentasi terbuka (*open fermentation system*) yang mengatur sel tetap hidup dalam kondisi *steady state* dan dipertahankan pada siklus hidup tertentu dengan penambahan nutrisi pada saat proses fermentasi berlangsung. Media akan diganti pada saat tertentu dan diberikan media baru untuk menjaga volume reaksi yang konstan (Q. Chen *et al.*, 2023).

2.1.4 Purifikasi senyawa dengan kolom kromatografi (*column chromatography)*

Proses pemurnian senyawa dapat dilakukan salah satunya menggunakan *column chromatography*. Zat atau ekstrak yang akan dimurnikan biasanya diletakkan di bagian atas kolom dan pelarut dialirkan ke bawah kolom. Fraksi ditampung serta diperiksa pemisahan senyawanya menggunakan TLC (*Thin Layer Chromatography*) (Armerego *and* Chai, 2003). Sedangkan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan prinsip yang hampir mirip dengan *column chromatography*, namun pada HPLC terdapat tekanan yang diterapkan pada saluran masuknya kolom kromatografi cair sehingga kinerja kolom dapat ditingkatkan beberapa kali lipat. Hal ini disebabkan oleh peningkatan kecepatan aliran cairan melalui kolom dan sebagian lagi karena kemasan kolom yang halus serta memiliki luas permukaan yang lebih besar. Sehingga HPLC akan menghasilkan pemisahan senyawa yang baik (Chiu *et al.*, 2017; Fiorelia *et al.*, 2022).

2.1.5 Identifikasi senyawa aktif dengan spektroskopi massa

Penentuan struktur senyawa dapat dilakukan dengan instrumen UHPLC-HRMS. Spektroskopi massa adalah salah satu instrumen pemisahan senyawa berdasarkan ion-ion yang sesuai dengan perbandingan massa dengan muatan dan pengukuran intensitas dari berkas ion-ion. Dalam spektroskopi massa, molekul-molekul senyawa organik diberikan tembakan menggunakan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion positif yang bertenaga tinggi atau sering disebut ion-ion molekul atau ion-ion induk, yang kemudian akan dipecah menjadi ion yang lebih kecil (Crutchfield *and* Clarke, 2014; Talha, 2020).

HR-MS (*High Resolution Mass Spectrometry*) merupakan modifikasi dari spektroskopi massa yang mampu mempercepat suatu analisis senyawa dalam penelitian. Instrumen ini memiliki kecepatan, resolusi, akurasi massa dan sensitivitas untuk memberikan hasil yang kualitatif maupun komprehensif, pembuatan profil cepat, seta deteksi dan kuantifikasi dengan akurasi yang tinggi dalam matriks kompleks (Ruiz Orduna *et al.*, 2017). HR-MS dapat dihubungkan dengan basis data senyawa kimia koleksi suatu laboratorium atau yang tersedia secara online dalam suatu platform metabolomik sepeti XCMS, MzMine, atau MS-DIAL (Zang *et al.*, 2020; Jiang *et al.*, 2022).

2.2 Landasan Teori

Penelitian antibakteri yang telah dilakukan terhadap kultur jamur endofit *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM172 dari *Curcuma manga* Valeton & Zijp menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, dan MRSA ATCC 33591) dan bakteri Gram negatif (*P. mirabilis*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* IBRL 0157, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* ATCC 13883 dan *A. anitratus*). Penelitian yang dilakukan sebelumnya terkait ekstrak etil asetat endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* juga menunjukkan aktivitas yang cukup baik dengan hasil KHM pada *E. coli* dan *S. aureus* sebesar 1,25% dan KBM pada *E. coli* dan *S. aureus* sebesar 2,5% (Tamhid *et al.*, 2024). Sampai saat ini belum ada penelitian terkait isolasi senyawa aktif antimikroba dari *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3, dan ini merupakan kebaruan dari penelitian ini.

Penelitian terkait jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *H. cordata* merupakan salah satu strategi yang dapat digunakan dalam penemuan antimikroba. Pengembangan dengan pemanfaatan bahan alam menjadi salah satu alternatif untuk penemuan agen antimikroba untuk mengatasi fenomena *multidrug resistance antibiotic* (Ventola, 2015). Pengembangan jamur endofit menjadi salah satu solusi dalam keterbatasan penggunaan tanaman segar untuk menghasilkan kandidat senyawa antimikroba dengan kebutuhan sampel yang sedikit dan waktu produksi yang singkat. Sehingga penelitian terkait isolasi dan identifikasi senyawa aktif dari endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 sangat penting untuk dilakukan.

2.3 Hipotesis

Isolat senyawa yang didapatkan dari ekstrak etil asetat endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 dari *Houttuynia cordata* memiliki aktivitas antimikroba dan dapat diidentifikasi struktur putatifnya menggunakan UHPLC-HRMS.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Biological Safety Cabinets* (BSC) (Thermo Scientific, 1300 series A2), inkubator, cawan petri, *autoclave* (Tommy, SX 500), *vacuum rotary evaporator* (Buchi, B-300), timbangan analitik (Shimadzu, AUW220D), konsentrator, *shaking water bath*, sentrifugasi (Tomy, MX-107), *inckubator shaker* (JA Shaker,220V-3P-20A), UHPLC-HRMS (Thermo Scientific), dan seperangkat alat gelas.

3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diperoleh dari InaCC BRIN, akuades, *purified water*, alkohol 70%, Etil asetat (Merck), metanol (Merck), asetonitril (Smart lab), $FeCl_3$, metanol HPLC (Merck), *Potato Dextrose Agar* (PDA, Oxoid), *Malt Extract Agar* (MEA, Himedia), kentang, pepton (Himedia), glukosa monohidrat (Merck), *Nutrien Agar* (NA, Oxoid), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, kloramfenikol, nystatin, standar McFarland.

3.3 Cara Penelitian

3.3.1 Kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

3.3.1.1 Kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media padat

Jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 diambil dari koleksi InaCC (*Indonesian Culture Collection*) BRIN dan dilakukan peremajaan pada media PDA kemudian dilakukan inkubasi selama 14 hari di dalam inkubator dengan suhu 28 ^oC.

3.3.1.2 Kultur vegetatif endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

Kultur vegetatif dilakukan dengan menumbuhkan kultur agar *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) (volume 30 ml media pada Erlenmeyer 250 ml). Inkubasi dilakukan menggunakan inkubator *shaker* selama 3 hari dengan suhu 28^oC dan kecepatan 220 rpm.

3.3.1.3 Kultur fermentasi endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

Kultur fermentasi dilakukan dengan mentransfer kultur vegetatif *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB (volume 100 mL dalam Erlenmeyer 500 mL). Di setiap Erlenmeyer ditambahkan sebanyak 10% kultur *vegetative*. Inkubasi dilakukan menggunakan inkubator *shaker* selama 7 hari dengan suhu 28^oC dan kecepatan 220 rpm

3.3.1.4 Penentuan kurva pertumbuhan

Ceratobasidium sp. galur HCS-3 dikultur secara vegetatif dan fermentatif selama 10 hari dan setiap hari dilakukan sampling untuk dilakukan pengukuran pH, PMV (*Packed Mycelium Volume*) dan kandungan senyawa aktif.

3.3.2 Ekstraksi kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

Ekstraksi dengan etil asetat dilakukan dengan perbandingan kultur fermentasi dan pelarut (1:1) (v/v) kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 15 menit dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali ekstraksi.

3.3.3 Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom

Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom terbuka dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak klorofom-metanol dengan elusi gradien (1:0, 95:5, 9:1, 8:2, 7:3, 1:1, 0:1) dengan masing-masing gradien fase gerak ditampung menjadi dua bagian dari total volume setiap fase gerak yang digunakan. *Bioassay-guided fractionation* dilakukan dengan menguji semua fraksi pada bakteri dan jamur uji dan selanjutnya fraksi aktif akan dilanjutkan tahapan selanjutnya.

3.3.4 Isolasi dan purifikasi senyawa aktif

Isolasi dan purifikasi senyawa aktif dilakukan dengan HPLC Shimadzu® preparatif menggunakan kolom SunFire C18 OBD-100A-5µm 10 mm x 250 mm, dengan elusi pelarut asetonitril-air (gradien 5%-100% selama 30 menit), deteksi pada UV 254 dan dilakukan penampungan menggunakan tabung reaksi terhadap senyawa target.

3.3.5 Identifikasi senyawa aktif

Fraksi yang paling aktif terhadap mikroba uji dilakukan identifikasi senyawa menggunakan HPLC analitik di Laboratorium Bioteknologi BRIN KST BJ. Habibie dan UHPLC-HRMS di Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan BRIN KS Umar Anggara Jenie.

3.3.6 Pengujian aktivitas antimikroba

3.3.6.1 Penyiapan larutan uji

Ekstrak/fraksi/senyawa aktif yang diperoleh dikeringkan dan dilarutkan dalam metanol untuk dibuat seri konsentrasi sampel.

3.3.6.2 Suspensi mikroba uji

Penyiapan mikroorganisme uji dilakukan dengan menyamakan kekeruhan suspensi mikroorganisme dengan standar McFarland 0,5, dengan cara penambahan suspensi bakteri dengan air RO steril hingga didapatkan kekeruhan setara dengan standar McFarland. Kekeruhan yang digunakan setara dengan 0,5 x 10^8 CFU/mL.

3.3.6.3 Pengujian aktivitas antimikroba

3.3.6.3.1 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) untuk uji antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus, B. subtilis*

Ditimbang 28 g NA dan dilarutkan dengan air RO sebanyak 1 L sambil diaduk di atas *hotplate* menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut dan homogen. Media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121^{o}C. media didiamkan hingga suhu ± 50^{o}C. Mikroba uji dimasukkan ke dalam media hingga setara dengan 10^6 CFU/mL dan diaduk hingga homogen. Media mengandung mikroba uji dituang ke dalam petri dan diamkan hingga memadat dan dingin. Tiap konsentrasi pengenceran/kontrol positif (kloramfenikol 1 mg/mL dalam metanol)/kontrol negatif (metanol) masing-masing sebanyak 20 µL diteteskan ke dalam *paper disk* diameter 8 mm lalu diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 24 jam. Kemudian, diamati zona bening yang terbentuk dan diukur menggunakan jangka sorong.

3.3.6.3.2 Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk uji antijamur *C. albicans*

Ditimbang 39 g PDA dan dilarutkan dengan air RO sebanyak 1L diaduk di atas *hotplate* menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut dan homogen. Media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121^{o}C dan didiamkan hingga suhu ± 50^{o}C. Mikroba uji dimasukkan ke dalam media hingga setara dengan 10^6 CFU/mL dan aduk hingga homogen. Media dituang ke dalam petri dan didiamkan hingga memadat dan dingin. Diteteskan tiap konsentrasi pengenceran/kontrol positif (nystatin 5 mg/mL dalam metanol)/kontrol negatif (metanol) sebanyak 20 µL ke dalam *paper disk* diameter 8 mm dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk dan diukur menggunakan jangka sorong.

3.3.6.3.3 Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mikrodilusi

Dilakukan pembuatan seri pengenceran sampel pada 96-*well plate*. Pengujian KHM dan juga KBM menggunakan metode mikrodilusi. Ke dalam masing-masing sumuran dimasukkan media sebanyak 100 µL dan 5 µL mikroba uji. Kemudian masing-masing sumuran yang sudah berisikan media dan mikroba uji ditambahkan sampel uji dalam DMSO 0,8% dan kontrol positif sebanyak 100 µL. Masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Selain itu pada *well plate* yang berbeda dimasukkan media sebagai kontrol media, sumuran yang berisikan media dan bakteri sebagai kontrol bakteri, serta pada sumuran yang terakhir berisikan media, mikroba uji, dan pelarut sebagai kontrol pelarut. Petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{o}C dan selanjutnya dilakukan konfirmasi KHM dan KBM dengan teknik penggoresan agar. Apabila pada konsentrasi sampel uji terendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan mikroba uji di *well plate* maka menunjukkan nilai KHM, sedangkan pada konsentrasi sampel uji terendah yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan mikroba uji di hasil penggoresan agar maka menunjukkan nilai KBM.

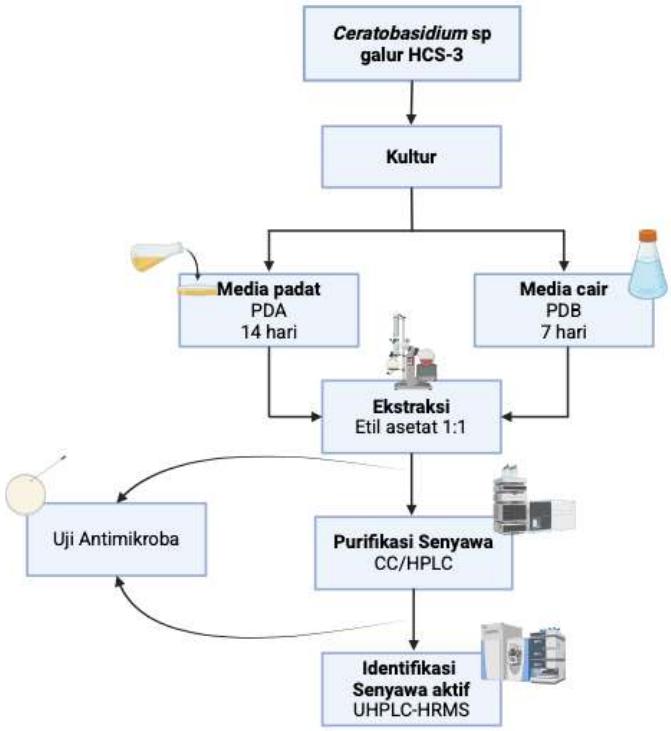
3.4 Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari uji antimikroba berupa diameter zona hambat dari hasil pengujian dengan dua replikasi. Potensi antimikroba juga dievaluasi melalui penetapan nilai KHM dan KBM menggunakan metode mikrodilusi. Berdasarkan data tersebut dilakukan analisis deskriptif dengan cara membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil yang ada pada penelitian serupa atau pada replikasi lain.

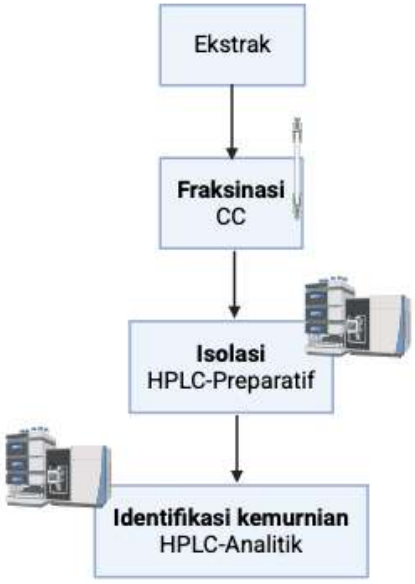
Analisis data UHPLC dilakukan secara deskriptif dan mencocokkan struktur putatif dengan basis data menggunakan MS-DIAL, MS-FINDER, dan SciFinder.

3.5 Skema Penelitian

Penelitian ini dimulai dari melakukan inokulasi kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. sampai dengan identifikasi isolat senyawa aktif. Skema penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Gambar 3.1 Skema umum penelitian



Gambar 3.2 Skema fraksinasi dan pemurnian

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Optimasi Fermentasi

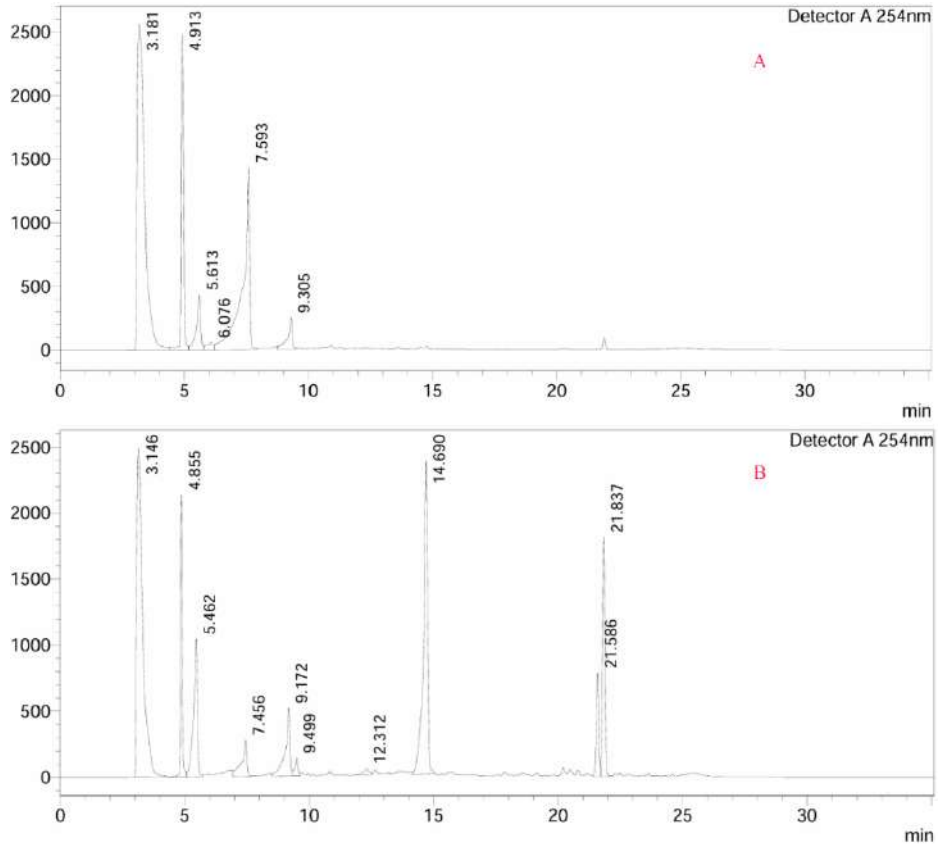
4.1.1 Hasil Optimasi Kultur pada Media PDA dan PDB dengan Metode Ekstraksi dan Fraksinasi

Pada tahap ini dilakukan optimasi kultur pada dua media yaitu PDA dan PDB lalu dilakukan ekstraksi menggunakan etil asetat (Tamhid *et al.*, 2024). Inkubasi kultur yang dilakukan pada media PDA dilakukan selama 14 hari, sedangkan kultur yang dilakukan pada media PDB selama 7 hari. Sehingga dihasilkan bobot ekstrak yang dapat dilihat pada **Tabel 4.1.**

Tabel 4.1 Bobot ekstrak optimasi media

Volume Ekstraksi	Media	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%b/v)
200 mL	PDA	0,22	0,110
1L	PDB	0,13	0,013

Dari hasil ekstraksi tersebut kemudian dilakukan analisis kandungan senyawa menggunakan HPLC analitik dan menghasilkan spektra yang dapat dilihat pada **Gambar 4.1**. Dari hasil analisis dapat dilihat terdapat perbedaan secara signifikan antara kromatogram ekstrak hasil kultur pada media PDA dan PDB yang menunjukkan perbedaan profil atau komposisi metabolit yang diproduksi. Perbedaan yang terdapat pada hasil kultur pada media PDA dan PDB terletak pada jumlah dan intensitas senyawa yang terdeteksi. Perbedaan jumlah metabolit yang terdeteksi dapat dilihat pada **Tabel 4.2** untuk hasil kultur dari media PDA dan pada **Tabel 4.3** untuk hasil kultur dari media PDB. Hal tersebut perlu diverifikasi karena perbedaan profil kromatogram tersebut kemungkinan akan mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antimikroba karena menunjukkan perbedaan komposisi dan intensitas kandungan senyawa aktif dalam masing-masing ekstrak.



Gambar 4.1 Kromatogram HPLC Preparatif PDA dan PDB: A. Ekstrak PDA; B. Ekstrak PDB

Tabel 4.2 Profil metabolit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDA

No	RT (menit)	Area	Tinggi puncak	Konsentrasi (%)
1	3,18	54190732	2558457	49,34
2	4,91	18185495	2476452	16,56
3	5,61	5104925	431456	4,65
4	6,08	1016669	58918	0,93
5	7,60	27850527	1433785	25,36
6	9,30	3491518	253148	3,18

Tabel 4.3 Profil metabolit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB

No	RT (menit)	Area	Tinggi puncak	Konsentrasi (%)
1	3,15	43446120	2488302	35,20
2	4,85	10386191	2134899	8,41
3	5,47	11654863	1042388	9,44
4	7,46	4042776	276232	3,28
5	9,18	6600352	516327	5,35
6	9,50	1184679	134073	0,96
7	12,31	801442	52505	0,65
8	14,70	27172126	2373864	22,02
9	21,59	5448416	782392	4,42
10	21,83	12672493	1809833	10,27

Sebagai konfirmasi bahwa penggunaan media fermentasi yang berbeda akan mempengaruhi produksi metabolit aktif kapang dan akan mempengaruhi aktivitas antibakteri dan antijamur, maka kedua ekstrak yang dihasilkan dari dua media tersebut diuji pada bakteri dan jamur patogen dan hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Hasil pengujian antimikroba ekstrak kultur dari media PDA dan PDB

Sampel	**Konsentrasi (ppm)**	***E. coli* (ATCC 25922)**	***S. aureus* (ATCC 25923)**	***B. subtilis* (ATCC 6633)**	***C. albicans* (ATCC 10231)**
		$\bar{x}$ ± SD (mm)	**$\bar{x}$ ± SD (mm)**	**$\bar{x}$ ± SD (mm)**	**$\bar{x}$ ± SD (mm)**
Kultur PDA	10.000	-	-	-	-
Kultur PDB	10.000	-	21,63 ± 0,21	20,43 ± 0,43	22,41 ± 0,17
Kloramfenikol	1.000	9,23 ± 0,04	29,01 ± 0,13	29,38 ± 0,42	-
Nystatin	5.000	-	-	-	20,72 ± 1,01
Metanol (pelarut)	-	-	-	-	-

Data pada **Tabel 4.4** menunjukkan ekstrak kapang yang dikultur pada media PDB menunjukkan potensi antimikroba lebih besar dibandingkan media PDA sehingga media PDB dipilih sebagai media yang akan digunakan untuk fermentasi endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 skala laboratorium. Hal tersebut didasari teknik fermentasi yang berbeda di mana ketika pada media PDA diinkubasi dalam keadaan statis sedangkan ketika menggunakan media PDB dalam keadaan bergerak atau dilakukan *shaker* akan lebih efektif dalam menghasilkan biomassa dan metabolit aktif yang dihasilkan oleh endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 (Octaviani *et al.*, 2022). Selain itu ermentasi kultur kocok dengan media cair memungkinkan terjadinya suplai oksigen yang lebih besar ke dalam kultur, kultur kapang yang karakteristiknya memerlukan banyak oksigen untuk produksi metabolit sekunder akan tumbuh lebih baik dan lebih memproduksi metabolit sekunder dengan adanya suplai oksigen yang lebih besar (Octaviani *et al.*, 2022).

Bila dibandingkan dari hasil pengujian sebelumnya, ekstrak kultur endofit *Ceratobasidium ramicola* IBRLCM172, dengan konsentrasi 50.000 ppm menghasilkan zona hambat > 20 mm pada mikroorganisme uji (*S. aureus* dan *B. subtilis*). Sedangkan penelitian kali ini ekstrak kultur dengan media PDB dengan konsentrasi 10.000 ppm menghasilkan zona hambat >20 mm pada mikroorganisme uji (*S. aureus, B. subtilis* dan *C. albicans*). Dengan demikian endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan sebagai penghasil senyawa antibakteri dan antijamur (Rahman *and* Ibrahim, 2020).

Selanjutnya dilakukan tahapan fraksinasi terhadap ekstrak kultur jamur menggunakan metode *time dependent* dengan menampung fraksi mulai menit ke-1 sampai ke-30, yang berfungsi untuk menentukan fraksi yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antijamur. Proses fraksinasi menggunakan HPLC preparatif. Hasil penimbangan bobot tampungan fraksi dapat dilihat pada **Tabel 4.5** dan hasil pengujian fraksi terhadap aktivitas antimikroba dapat dilihat pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.5 Bobot fraksi HPLC preparatif

Fraksi Menit ke-	**Bobot Fraksi dari media PDB (mg)**
1	0,4
2	0,3
3	1,2
4	1,7
5	0,4
6	0,5
7	0,1
8	0,1
9	0,4
10	0,4
11	0,3
12	0,6
13	1,1
14	0,6
15	2,2
16	0,3
17	0,3
18	0,1
19	0,2
20	0,0
21	0,0
22	1,1
23	0,0
24	0,4
25	0,4
26	0,4
27	0,6
28	0,5
29	0,4
30	0,3

Tabel 4.6 Hasil pengujian fraksi ekstrak kultur media PDB terhadap mikroba uji

Sampel (menit)		*E. coli* (ATCC 25922)		*S. aureus* (ATCC 25923)		*B. subtilis* (ATCC 6633)		*C. albicans* (ATCC 10231)	
		R1 (mm)	R2 (mm)	R1 (mm)	R2 (mm)	R1 (mm)	R2 (mm)	R1 (mm)	R2 (mm)
HCS-3 PDB Fraksi ke-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	-	-	15,25	16,18	15,20	15,09	9,24	9,64
	16	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	-	-	-	-	13,52	13,53	-	-
	18	-	-	-	-	10,24	10,32	-	-
	19	-	-	-	-	13,25	12,77	11,24	11,61
	20	-	-	-	-	14,79	14,55	12,98	12,13
	21	-	-	-	-	14,46	14,56	11,25	12,76
	22	-	-	24	24,02	24,49	22,31	16,71	17,18
	23	-	-	-	-	12,85	9,05	-	-
	24	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	15,29	14,73	-	-
	26	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-
	29	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-	-	-
Metanol		-	-	-	-	-	-	-	-
Kloramfenikol 1.000 ppm		27,45	28,83	23,68	24	24,85	26,55	-	-
Nystatin 5.000 ppm		-	-	-	-	-	-	18,61	18,07

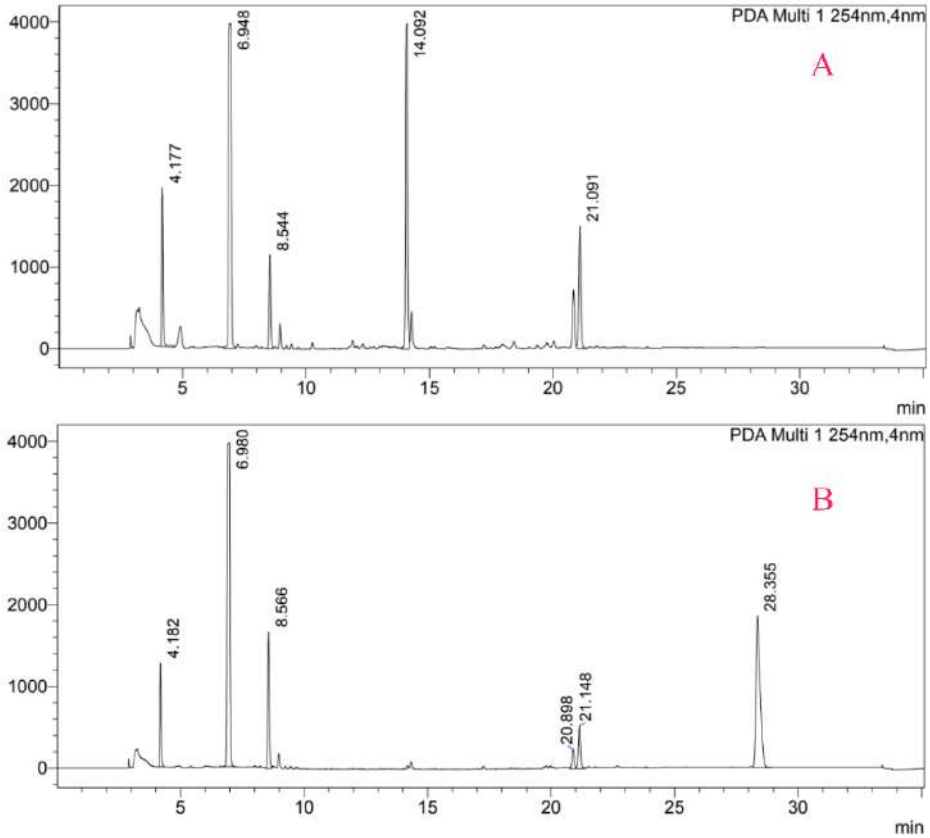
***Keterangan**: - (tidak ada zona hambat).

Hasil pengujian antimikroba terhadap fraksi HPLC preparatif, kultur pada media PDB menghasilkan aktivitas antimikroba yang cukup baik pada menit ke-15 dan 22. Dari kedua fraksi tersebut, senyawa pada tampungan menit ke-22 merupakan senyawa yang bersifat *reproducible*. Ekstrak kultur media PDB dan tampungan fraksi pada menit ke-22 sangat potensial untuk dilanjutkan untuk diisolasi senyawa aktifnya. Selain itu juga tahapan ini untuk menetapkan senyawa target dalam proses isolasi berikutnya.

4.1.2 Optimasi Waktu Panen

4.1.2.1 Optimasi umur kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDA yang akan digunakan sebagai inokulum media PDB

Pada tahap ini dilakukan optimasi waktu inkubasi kultur endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 pada media PDA yang akan digunakan sebagai inokulum ke media PDB. Berikut merupakan perbandingan lama inkubasi kultur dengan hasil profil metabolit sekunder yang ditargetkan, yang dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2 Hasil pembacaan sampel menggunakan HPLC analitik, **A**. Sumber kultur media PDA 14 hari dan **B**. Sumber kultur media PDA 7 hari

Tabel 4.7 Perbandingan area senyawa target dari ekstrak 5L ke-1 dan ke-2

RT Senyawa target (menit)	Area 5L ke-1	Area 5L ke-2
21,091	8511825	-
21,148	-	3094254

Gambar 4.2 dan **Tabel 4.7** menunjukkan adanya pengaruh sumber kultur jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang digunakan pada umur kultur 7 hari dan 14 hari sebagai inokulum pada kultur cair (PDB). Penggunaan inokulum berumur 14 hari menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai agen antibakteri dan antijamur yang cukup banyak berdasarkan perbedaan area senyawa target pada kromatogram HPLC. Area pada hasil pembacaan HPLC menggambarkan jumlah senyawa yang terkandung, semakin besar area maka semakin besar pula senyawa yang terkandung (Angraini *and* Desmaniar, 2020).

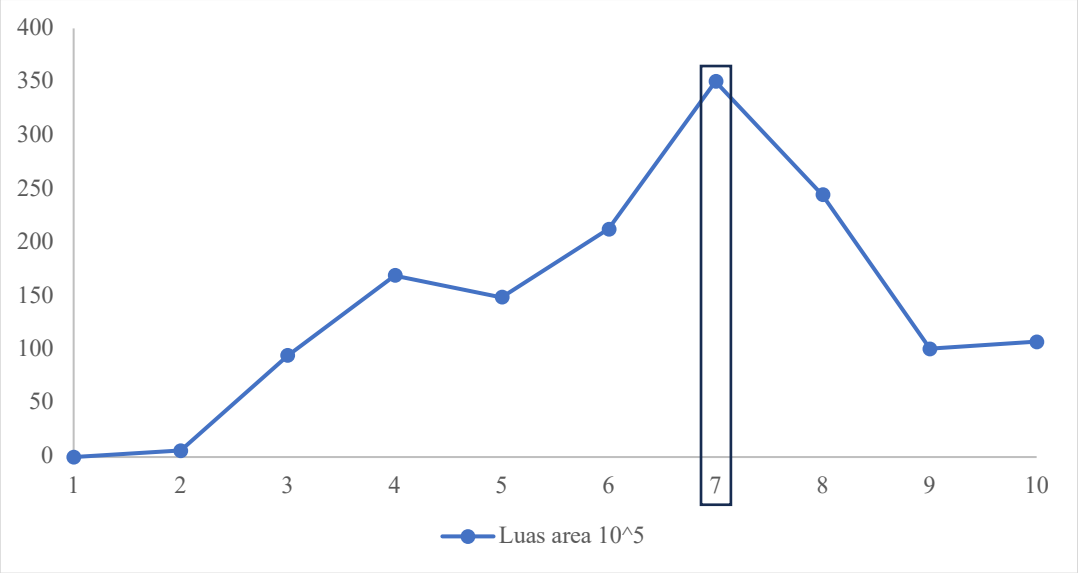
4.1.2.2 Optimasi waktu panen kultur dari media PDB

Optimasi waktu pemanenan dilakukan untuk menentukan waktu pemanenan yang paling optimal dari kultur fermentasi endofit *Ceratobasisium* sp. galur HCS-3 dalam memproduksi senyawa target yang memiliki aktivitas antimikroba terbaik. Pada penelitian kali ini, pembuatan kurva produksi senyawa target yang terletak pada menit tampungan ke-22 paling banyak terkandung pada sampel hari ke-7. Rerata luas area, pH, dan PMV dapat dilihat pada **Tabel 4.8**., selain itu gambar terkait perkembangan kultur endofit pada media PDB dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Hasil penelitian ini menghubungkan antara luas area senyawa target dan nilai PMV kultur fermentasi. Semakin besar nilai PMV dari kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 maka menghasilkan metabolit target yang makin besar pula sehingga waktu pemanenan ditetapkan pada hari ke-7 (**Gambar 4.3)**.

Tabel 4.8 Hasil optimasi waktu panen kultur fermentasi endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB.

Hari ke-	Rata-rata luas area senyawa target	pH	PMV (%)
1	0	4,98	6,67
2	610774	5,49	16,67
3	9472751	6,64	25,00
4	16929543	6,12	26,67
5	14918954	6,12	41,67
6	21275770	6,53	46,67
7	35046469	6,11	50,00
8	24465348	5,08	41,67
9	10094887	4,89	41,67
10	10752743	4,94	33,33



***keterangan** sumbu X: Hari fermentasi; Y: area senyawa target (HPLC)

Gambar 4.3 Grafik produksi senyawa target selama masa inkubasi kultur fermentasi

Berdasarkan hasil yang tertera pada **Tabel 4.8** terdapat perubahan nilai pH kultur, semakin lama proses inkubasi maka pH yang dihasilkan akan semakin turun serta beriringan dengan menurunnya produksi senyawa target (Widjajanti *et al.*, 2022).

4.1.3 *Scale up* kultur *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB

Proses *scale up* kultur fermentasi dilakukan untuk mendapatkan hasil isolat senyawa aktif yang lebih banyak. Pada tahap ini dilakukan tiga kali *scale up* fermentasi masing-masing sebanyak 5 L. Proses *scale up* melalui proses fermentasi, ekstraksi, fraksinasi, dan juga isolasi untuk mendapatkan senyawa target yang memiliki potensi sebagai antimikroba.

Bobot ekstrak yang diperoleh dari dua kali produksi *scale up* dapat dilihat pada **Tabel 4.9**.

Tabel 4.9 Hasil bobot ekstrak *scale up* 5L ke-1, ke-2, dan ke-3

***Scale up* ke-**	**Bobot ekstrak etil asetat (g)**
5L ke-1	1,165
5L ke-2	1,739
5L ke-3	1,520

Hasil ekstraksi dari masing-masing fermentasi *scale up* dilakukan pengujian antimikroba dan juga dilakukan proses ke tahap berikutnya untuk mendapatkan isolat senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba. Hasil pengujian antimikroba ekstrak PDB dari hasil *scale up* menghasilkan zona hambat yang cukup baik, dapat dilihat pada **Tabel 4.10**. Hasil ekstrak scale up 5L ke-1 dan ke-2 dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu fraksinasi dan isolasi senyawa aktif. Pemilihan kloramfenikol dalam penelitian ini ialah sebagai kontrol positif yang memiliki aktivitas pada bakteri gram negatif dan juga gram positif (Rubin *et al*., 2011). Penggunaan

nystatin sebagai kontrol positif pada pengujian antijamur adalah nystatin merupakan *first line* pada pengobatan candidiasis, sehingga penggunaan nystatin sangat cocok pada penelitian ini (Torabi *et al*., 2022).

Table 4.10 Hasil pengujian antimikroba ekstrak hasil *scale up*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	*Escherichia coli* (ATCC 25922)		*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)		*Bacillus subtilis* (ATCC 6633)		*Candida albicans* (ATCC 10231)	
		x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD
Ekstrak kultur PDB 5L (1)	10.000	-	-	17,87	0,28	17,10	0,07	17,22	0,06
Ekstrak kultur PDB 5L (2)	10.000	-	-	19,10	1,32	17,47	0,25	20,50	0,40
Kloramfenikol	1.000	9,23	0,04	29,01	0,13	29,38	0,42	-	-
Nystatin	5.000	-	-	-	-	-	-	20,72	1,01
Metanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-

***Keterangan**: - (tidak ada zona hambat).

Hasil ekstraksi kultur *scale up* 5L ke-1, ke-2, dan ke-3 selanjutnya difraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka dengan fase diam silika gel 60 sebanyak 35 g dan fase gerak kloroform-metanol dengan berbagai komposisi secara gradien (1:0, 95:5, 9:1, 8:2, 7:3, 1:1, 0:1) masing-masing dengan volume fase gerak 270 mL dan tiap komposisi fase gerak dibagi menjadi dua tampungan yang masing-masing berisi 135 mL. Hasil fraksi ditampung dalam Erlenmeyer yang kemudian dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40^{o}C hingga mendapatkan fraksi yang kental. Hasil fraksinasi kolom silika dapat dilihat pada **Tabel 4.11**.

Tabel 4.11 Hasil fraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka

Gradien Fraksi	Tampungan Fraksi Ke-	Bobot Fraksi ke-1* (mg)	Bobot Fraksi ke-2* (mg)	Bobot Fraksi ke-3* (mg)
1:0	1	397	14,1	414,2
	2	122,7	68,2	52,9
95:5	1	23,4	341	518,1
	2	127,3	486,1	61,8
9:1	1	25,8	64,7	53,5
	2	11,1	37,8	40,2
8:2	1	7,9	42,7	37,2
	2	7,1	20,7	33,7
7:3	1	12,2	22,9	33,2
	2	6,2	8,3	9,9
1:1	1	11,5	13	26,1
	2	9	1,9	15,5
0:1	1	24,3	13,2	31,7
	2	7,6	8,5	6,9

***Keterangan:** perbedaan fraksi tersebut bersumber dari perbedaan sumber ekstrak, yaitu fraksi ke-1 bersumber dari ekstrak 5L ke-1, fraksi ke-2 bersumber dari ekstrak 5L ke-2

Hasil proses fraksinasi kolom terbuka selanjutnya diuji aktivitas antimikroba untuk penetapan potensi antimikroba setiap fraksi. Fraksi yang diuji adalah hasil fraksinasi ke-1 sebagai landasan untuk fraksinasi ekstrak berikutnya untuk digunakan sebagai bahan isolasi senyawa aktif. Hasil tahap fraksinasi dapat dilihat pada **Tabel 4.12.**

Tabel 4.12 Hasil uji antibakteri dan antijamur fraksi ekstrak kultur media PDB

	Gradien (Kloroform-metanol)	***Escherichia coli* (ATCC 25922)**		***Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**		***Bacillus subtilis* (ATCC 6633)**		***Candida albicans* (ATCC 10231)**	
		x̄ (mm)	**SD**	**x̄ (mm)**	**SD**	**x̄ (mm)**	**SD**	**x̄ (mm)**	**SD**
Konsentrasi 10.000 ppm	1:0 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:0 (2)	-	-	-	-	-	-	-	-
	95:5 (1)	-	-	12,32	0,13	15,43	0,10	17,42	0,07
	95:5 (2)	-	-	21,81	0,22	19,34	0,11	20,45	0,54
	9:1 (1)	-	-	24,76	0,26	23,88	0,13	22,24	0,11
	9:1 (2)	-	-	23,64	0,47	23,48	0,15	22,35	0,28
	8:2 (1)	-	-	23,55	0,51	23,48	0,28	20,63	0,30
	8;2 (2)	-	-	14,75	0,56	16,44	0,30	17,51	0,40
	7:3 (1)	-	-	13,84	0,75	12,15	0,79	13,73	0,03
	7:3 (2)	-	-	10,11	0,35	12,70	0,44	12,66	0,40
	1:1 (1)	-	-	-	-	11,87	0,81	12,72	0,24
	1:1 (2)	-	-	-	-	13,62	0,14	12,88	0,09
	0:1 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-
	0:1 (2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Kloramfenikol 1.000 ppm		9,23	0,04	29,01	0,13	29,38	0,42	0,00	0,00
Nystatin 5.000 ppm		-	-	-	-	-	-	20,72	1,01
Metanol		-	-	-	-	-	-	-	-

***Keterangan**: '-' (tidak ada zona hambat).

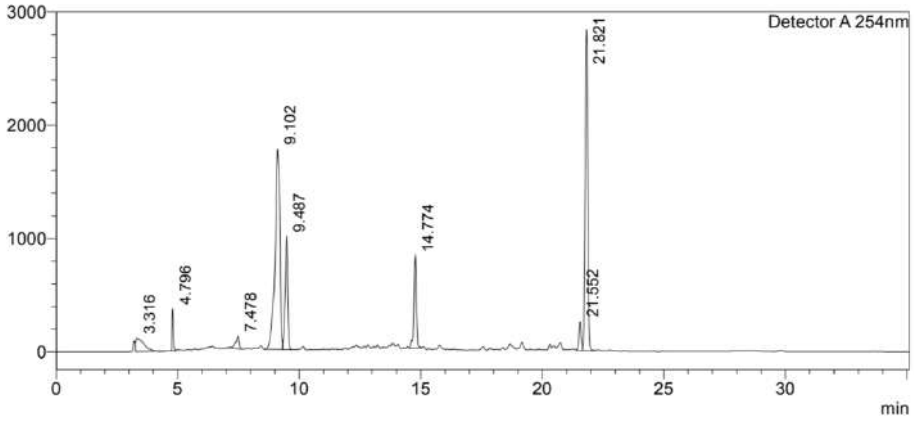
Hasil pengujian antimikroba pada **Tabel 4.12**. digunakan sebagai landasan untuk tahapan selanjutnya yaitu tahap isolasi senyawa aktif. Fraksi dari elusi fase gerak 95:5 (1&2), 9:1 (1&2) dan 8:2 (1&2), yang memiliki aktivitas antimikroba yang cukup baik serta memiliki hasil fraksi yang cukup banyak ditetapkan untuk tahapan isolasi senyawa aktif.

4.1.3.3 Hasil Purifikasi Senyawa Aktif

4.1.3.3.1 Hasil purifikasi dan uji antimikroba dari ekstrak 5L ke-1 dan ke-2

Purifikasi senyawa aktif ke-1 bersumber dari fraksi kolom terbuka dengan komposisi fase gerak 9:1 (1&2) dan 8:2 (1&2) dari ekstrak 5 L ke-1. Konsentrasi yang dibuat pada tahap purifikasi ini adalah 62 mg/600 mL dalam pelarut metanol. Kromatogram HPLC preparatif dari pemurnian senyawa dapat dilihat pada **Gambar 4.4** dan hasil bobot pada purifikasi dapat

dilihat pada **Tabel 4.13**. Hasil senyawa target terletak pada fraksi ke-6 dan ke-7. Pada proses purifikasi HPLC preparatif menggunakan fase diam kolom SunFire C18 OBD-100A-5µm 10mm x 250mm, dengan elusi fase gerak asetonitril-air (gradien 5%-100% selama 30 menit).



Gambar 4.4 Kromatogram HPLC preparatif fraksi aktif antimikroba

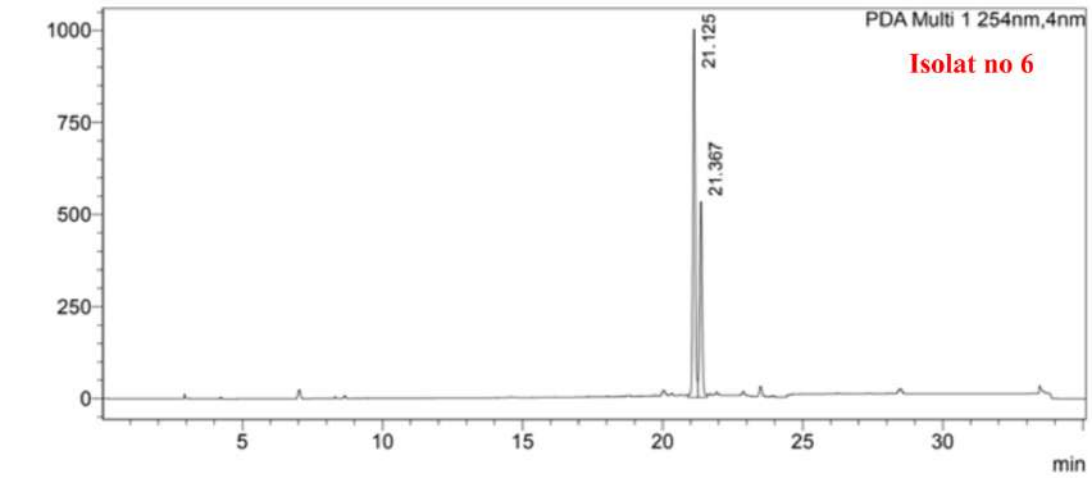
Tabel 4.13 Bobot fraksi preparatif dan hasil uji antibakteri dan antijamur (purifikasi ke-1)

No	RT tampungan (menit)	*S. aureus* (ATCC 25923)		*B. subtilis* (ATCC 6633)		*C. albicans* (ATCC 10231)		Bobot (mg)
		x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	
1	4,74	-	-	-	-	-	-	0
2	7,4	-	-	-	-	-	-	0,8
3	9,16	-	-	-	-	-	-	0
4	9,5	-	-	-	-	-	-	0,5
5	14,62	-	-	-	-	-	-	1,3
6	21,53	17,24	0,01	20,39	1,38	-	-	0,1
7	21,8	17,18	0,56	21,14	0,47	-	-	3,5
Kloramfenikol		22,09	0,09	30,05	0,07		-	-
Nystatin		-	-	-	-	~	~	
Metanol		-	-	-	-			

*Keterangan: konsentrasi sampel 500 ppm, Kloramfenikol 1.000 ppm dan nystatin 5.000 ppm
~ zona hambat tidak dapat terukur

Masing-masing fraksi hasil pemurnian menggunakan HPLC preparatif selanjutnya dianalisis kemurniannya menggunakan HPLC analitik dengan konsentrasi sampel 50 ppm dalam pelarut metanol. Hasil kemurnian dan profil kromatogram HPLC analitik sampel nomor 6 dan 7 yang memiliki potensi antimikroba dapat dilihat pada **Gambar 4.5.**

<Chromatogram>

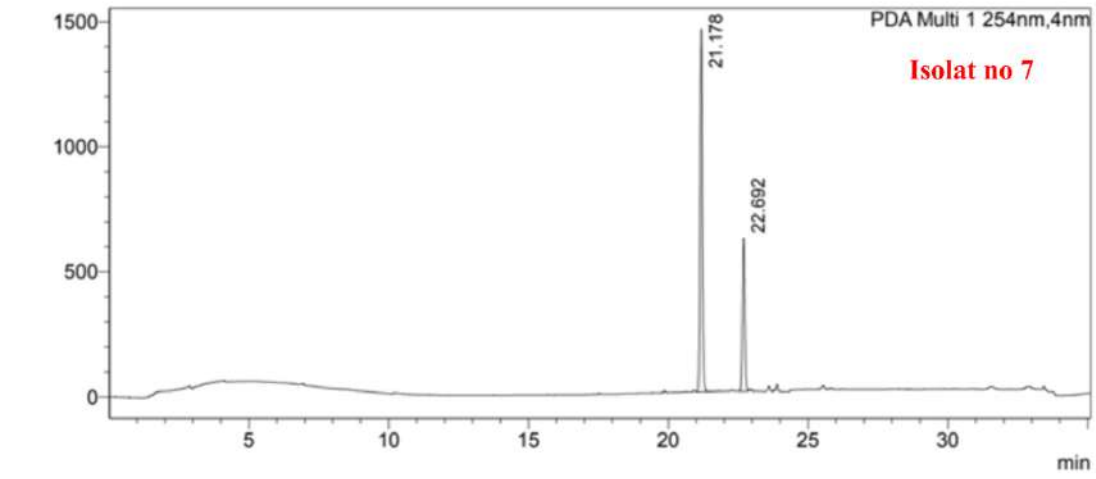


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	21.125	5736146	65.261	994931	65.223
2	21.367	3053368	34.739	530504	34.777
Total		8789513	100.000	1525435	100.000

<Chromatogram>



<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	21.178	7860835	69.290	1445544	70.404
2	22.692	3483940	30.710	607675	29.596
Total		11344776	100.000	2053219	100.000

Gambar 4.5. Kromatogram HPLC analitik untuk perbandingan isolat nomor 6 dan 7

Kedua kromatogram HPLC analitik tersebut memperlihatkan kemiripan profil senyawa yang terkandung pada fraksi sampel 6 dan 7 terutama puncak pada menit ke-21. Kedua senyawa yang terkandung pada kedua fraksi tersebut diduga sebagai komponen yang berperan sebagai antimikroba. Namun, kedua isolat tersebut masih memiliki kemurnian yang kurang baik di

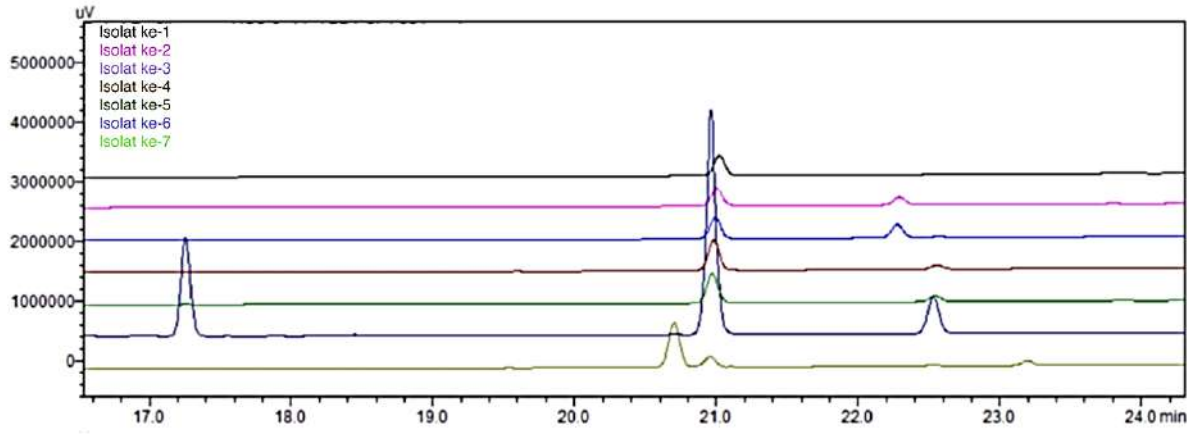
mana kemurnian isolat nomor 6 yaitu 65,261% dan kemurnian isolat nomor 7 yaitu 69,290%, sehingga masih perlu dilakukan pemurnian kembali.

Pemurnian lanjutan kemudian dilakukan terhadap beberapa fraksi kromatografi kolom terbuka yaitu fraksi 9:1, 8:2, dan 95:5 yang berasal dari ekstrak 5L ke-1 dan ke-2. Hasil pemurnian dapat dilihat pada **Tabel 4.14.**

Tabel 4.14 Pemurnian senyawa lanjutan pada fraksi ekstrak 5L ke-1 dan ke-2

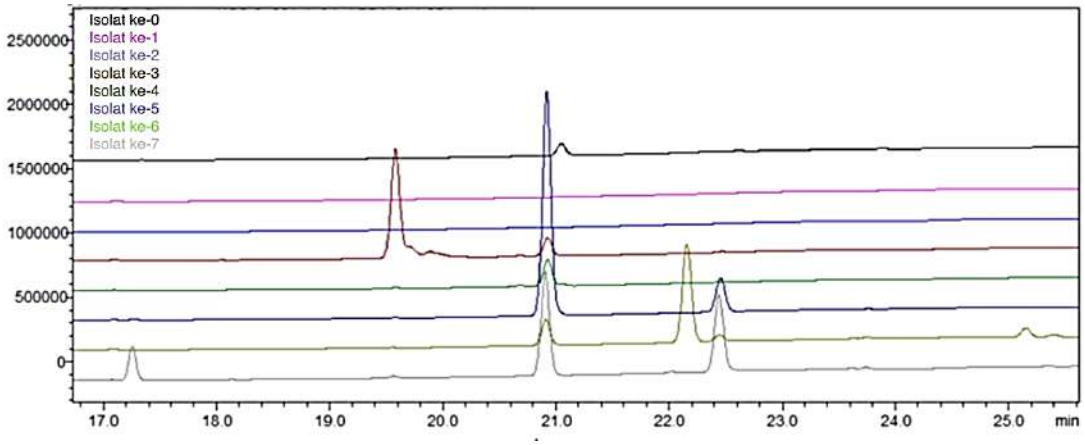
No	Sumber Ekstrak 5 L Ke-	Gradien Fraksi	Sumber tampungan Fraksi ke-	RT Tampungan (menit)	Bobot Isolat (mg)
1	1	9:1 dan 8:2	1 dan 2	21,8	3,5
2		95:5	1 dan 2	21,53	0,3
3	2	9:1 dan 8:2	1 dan 2	21,8	7,7
4		95:5	1	21,76	1,7
5		95:5	2	21,61	1,6
6		95:5	1 dan 2	21,8	13,1
7				21,6	3,4

Sesuai hasil yang dapat dilihat pada **Tabel 4.14,** telah berhasil mendapatkan sebanyak 7 isolat senyawa yang perlu dilakukan analisis kemurnian menggunakan HPLC analitik. Analisis perbandingan profil masing-masing isolat menggunakan HPLC analitik dapat dilihat pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6. Perbandingan profil kromatogram HPLC analitik isolat senyawa aktif dari *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3, isolat ke-1 hingga ke-7

Gambar 4.6. menunjukkan adanya beberapa isolat senyawa yang memiliki kemiripan puncak yaitu isolat nomor 2, 3, 4, 5 dan 6 sehingga isolat tersebut digabung untuk mendapatkan total bobot isolat yang lebih banyak dan lebih murni dan dilanjutkan proses isolasi dan pengujian antimikroba. Profil kromatogram hasil penggabungan fraksi aktif yang kemudian dilakukan pemurnian lebih lanjut dapat dilihat pada **Gambar 4.7.** Hasil uji antibakteri dan antijamur tersaji pada **Tabel 4.15**.

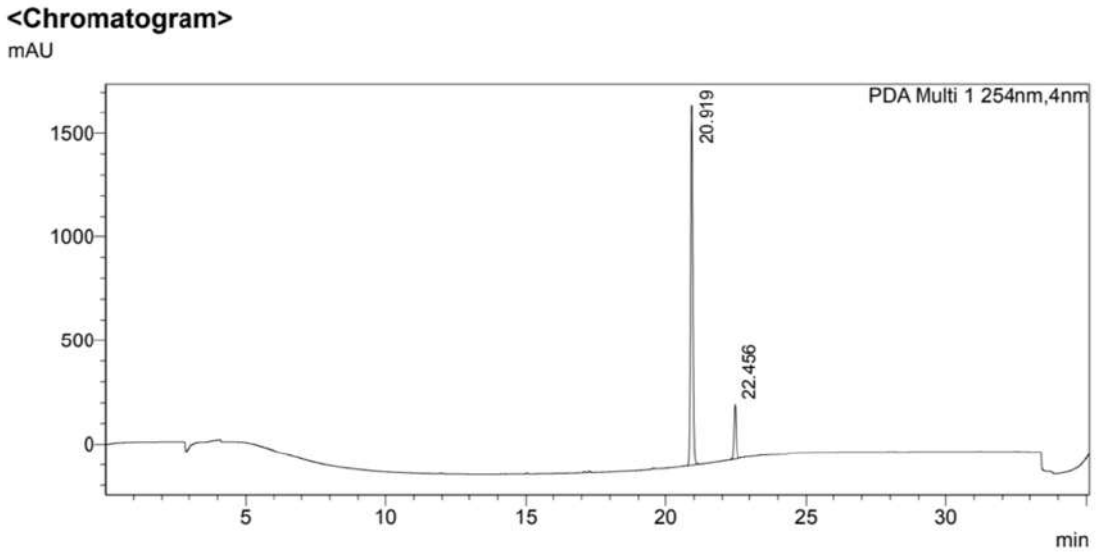


Gambar 4.7 Perbandingan profil kromatogram HPLC analitik penggabungan fraksi ekstrak kultur *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3, isolat ke-1 hingga ke-7

Tabel 4.15 Hasil pengujian antimikroba terhadap senyawa isolat

No isolat	*S. aureus* (ATCC 25923)		*B. subtilis* (ATCC 6633)		*C. albicans* (ATCC 10231)		Bobot (mg)
	x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	x̄ (mm)	SD	
1	-	-	-	-	-	-	0,1
2	-	-	-	-	-	-	0,1
3	13,03	0,05	20,68	0,14	12,61	0,20	0,3
4	14,84	0,06	16,35	0,04	16,43	0,28	0,7
5	26,29	0,11	28,74	0,08	21,14	0,18	8,2
6	19,70	0,16	20,28	0,35	16,58	0,42	0,5
7	20,89	0,18	24,38	0,02	18,36	0,01	0,7
Kloramfenikol	30,67	0,02	33,68	0,08	-	-	
Nystatin	-	-	-	-	16,81	0,19	
Metanol	-	-	-	-	-	-	

Gambar 4.7 dan **Tabel 4.15.** menunjukkan bahwa senyawa yang terelusi pada menit ke-20,9 memiliki potensi sebagai antibakteri dan antijamur. Selain itu senyawa isolat nomor 5 memiliki kemurnian yang cukup tinggi yaitu 86,34%, yang dapat dibuktikan dari hasil analisis HPLC analitik pada **Gambar 4.8.** Hasil analisis dari senyawa isolat nomor 1-7 dapat dilihat pada **Lampiran 8.**



Gambar 4.8 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat nomor 5 (RT 20,919) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 86,336%

Tabel 4.16 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat 5

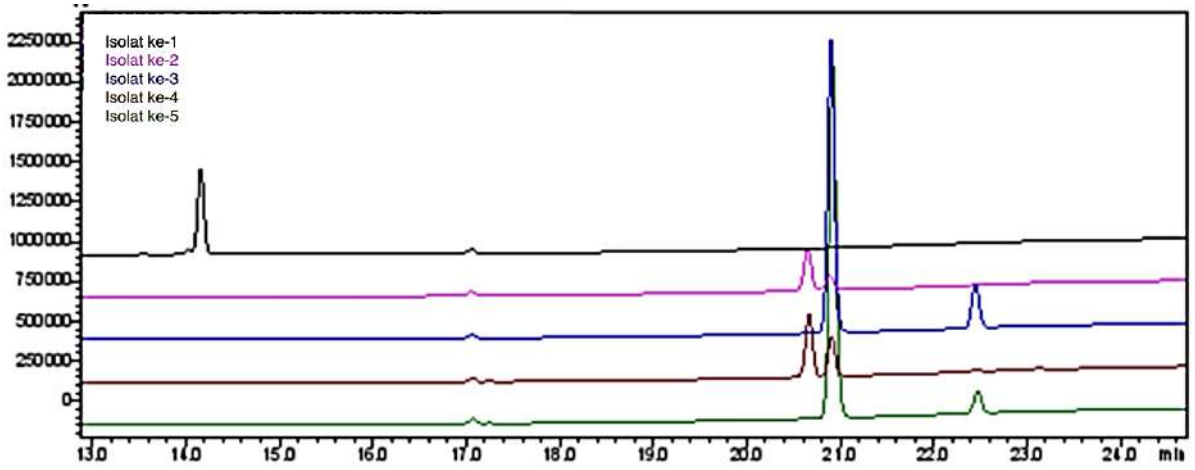
No	RT (menit)	Area	% Area	Tinggi puncak	Konsentrasi (%)
1	20,919	9363965	86,336	1741490	86,878
2	22,456	1481991	13,664	263034	13,122

4.1.3.3.2 Isolasi senyawa aktif dari ekstrak 5L ke-3

Isolasi senyawa aktif dari ekstrak 5L ke-3 dilakukan karena hasil isolasi senyawa aktif yang bersumber dari 5L ke-1 dan ke-2 masih sangat sedikit, sehingga dilakukan isolasi kembali dari ekstrak tersebut. Ekstrak 5L ke-3 menghasilkan senyawa isolat yang dapat dilihat pada **Tabel 4.17** dan **Gambar 4.9**.

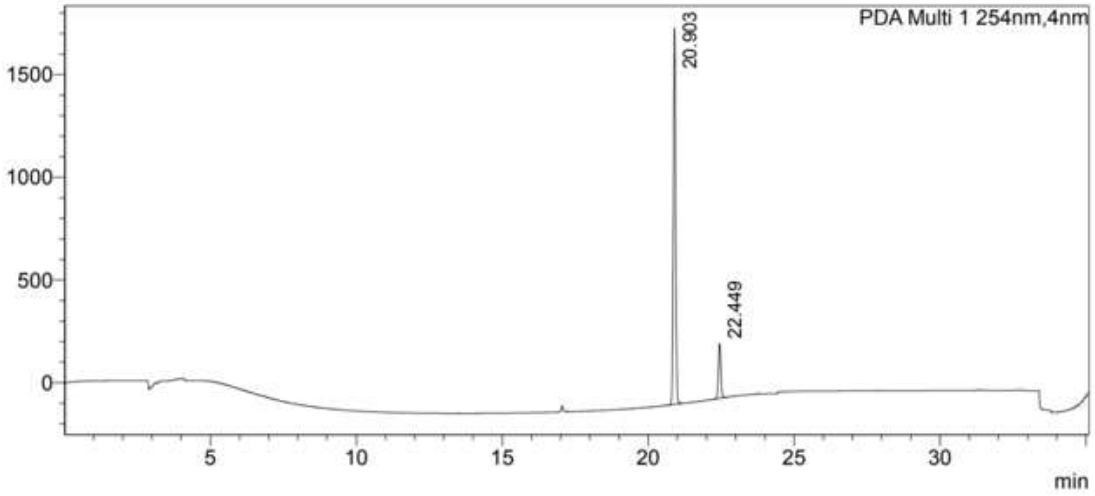
Tabel 4.17 Hasil purifikasi ekstrak 5L ke-3

No	Gradien Fraksi (Sumber tampungan Fraksi ke-)	Bobot Isolat (mg)
1	95:5 (2); 9:1 (1&2); 8:2 (1&2)	4,8
2		0,9
3		3,8
4	95:5 (1)	1,2
5		7,3



Gambar 4.9 Perbandingan kromatogram hasil purifikasi senyawa aktif dari ekstrak 5L ke-3

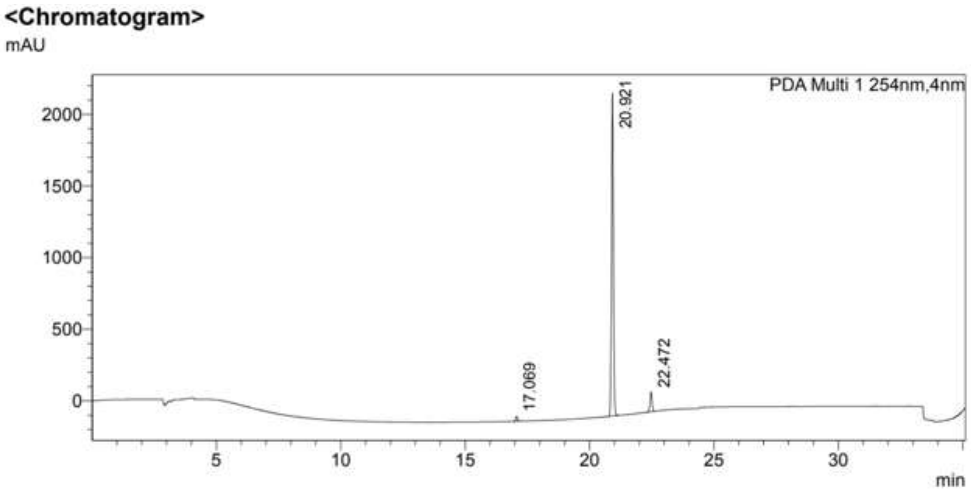
Isolasi senyawa aktif yang dilakukan pada ekstrak 5L ke-3 ini menghasilkan 5 tampungan senyawa yang terdapat pada **Tabel 4.17.** Masing-masing senyawa isolat dianalisis dengan HPLC analitik. Senyawa isolat nomor 3 dan nomor 5 memiliki kemurnian yang cukup tinggi. **Gambar 4.10** dan **Tabel 4.18** untuk kemurnian senyawa isolat nomor 3 dan pada **Gambar 4.11** dan **Tabel 4.19** untuk kemurnian senyawa isolat nomor 5.



Gambar 4.10 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat 3 (RT 20,903) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 86,678%

Tabel 4.18 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat ke-3 dari ekstrak 5L ke-3

No	RT (menit)	Area	% Area	Tinggi puncak	Konsentrasi (%)
1	20,903	9832331	86,678	1830797	87,340
2	22,449	1511197	13,322	2096162	12,660

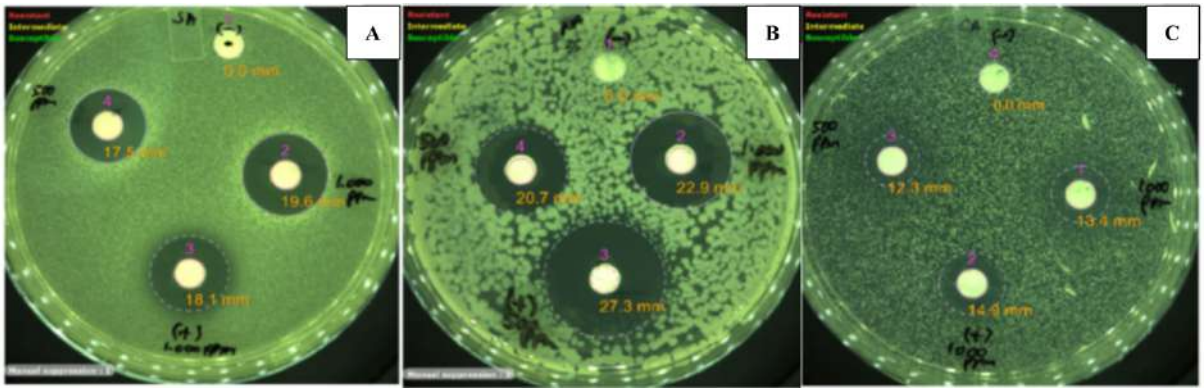


Gambar 4.11 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat 5 (RT 20,903) menggunakan HPLC analitik dengan kemurnian 92,62%

Tabel 4.19 Hasil analisis kemurnian senyawa isolat ke-5 dari ekstrak 5L ke-3

No	RT (menit)	Area	% Area	Tinggi puncak	Konsentrasi (%)
1	17,069	165718	1,285	34827	1,438
2	20,921	11943804	92,62	2248735	92,874
3	22,472	786157	6,096	137714	5,688

Senyawa isolat yang didapatkan pada **Gambar 4.11** dengan kemurnian 92,62%, diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji seperti ditampilkan pada **Gambar 4.12.**



*Keterangan: A: *S. aureus*; B: *B. subtilis*; C: *C. albicans*, diameter paper disk 6 mm

Gambar 4.12 Hasil pengujian antibakteri dan antijamur terhadap senyawa isolat dengan kemurnian 92,62%.

Dari hasil pengukuran zona hambat isolat yang didapatkan dari endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *B. subtilis*, serta antijamur terhadap *C. albicans*. Untuk mendapatkan hasil konsentrasi yang paling efektif dalam membunuh dan juga menghambat suatu mikroba, selanjutnya isolat tersebut dilakukan pengujian KHM dan KBM.

4.6. Hasil Pengujian KHM dan KBM senyawa isolat dari kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3

Hasil pengukuran KHM dan KBM senyawa isolat dari kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yang diisolasi dari *H. cordata* menghasilkan nilai seperti yang tertera pada **Tabel 4.20.** Gambar untuk menunjang data tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 16-18** dari hasil konfirmasi KHM dan KBM pada mikroba uji.

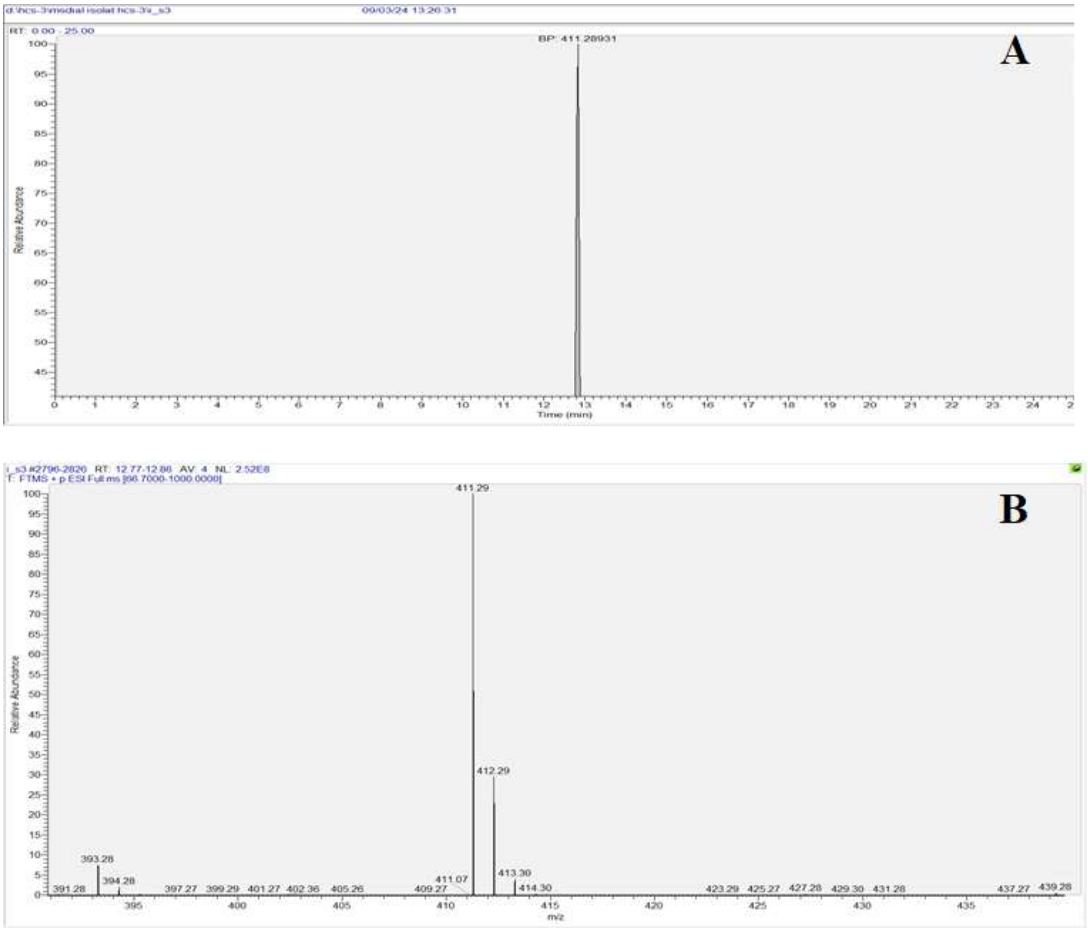
Tabel 4.20 Hasil pengujian KHM dan KBM senyawa isolat dengan kemurnian 92,62%

Mikroorganisme uji	KHM (ppm)	KBM (ppm)
C. albicans	200	400
B. subtilis	0,97	1,9
S. aureus	7,81	15,63

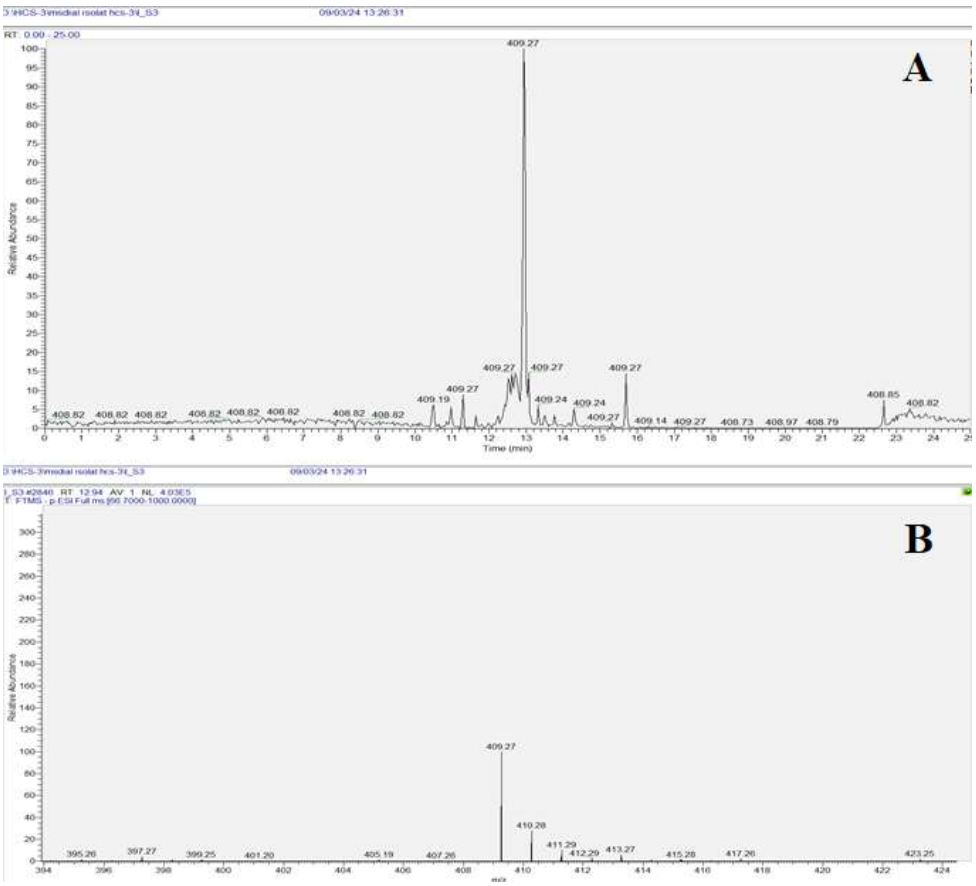
Bila dibandingkan dengan literatur yang ada untuk hasil KBM kontrol positif kloramfenikol pada bakteri *S. aureus* sebesar 4,07 ppm dan KHM pada isolat sebesar 7,81 ppm, sehingga potensi isolate terhapat bakteri *S. aureus* cukup baik (Rubin *et al*., 2011). Penetapan KHM pada kontrol positif kloramfenikol terhadap *B. subtilis* menghasilkan nilai KHM sebesar 8 ppm, sehingga hasil pengujian senyawa aktif dari *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan kontrol positif kloramfenikol yaitu 0,97 ppm (Adimpong *et al*., 2012). Sedangkan pengujian KHM kontrol positif nystatin terhadap *C. albicans* menghasilkan nilai KHM sebesar 2 ppm dan KHM pada isolat sebesar 200 ppm (Torabi *et al*., 2022).

4.7 Identifikasi Senyawa Isolat Menggunakan UHPLC-HRMS

Profil kromatogram UHPLC-HRMS didukung platform MS-DIAL dapat dilihat pada **Gambar 4.13.** serta hasil analisis formula dan struktur putatif menggunakan MSFINDER dapat dilihat pada **Gambar 4.14.**

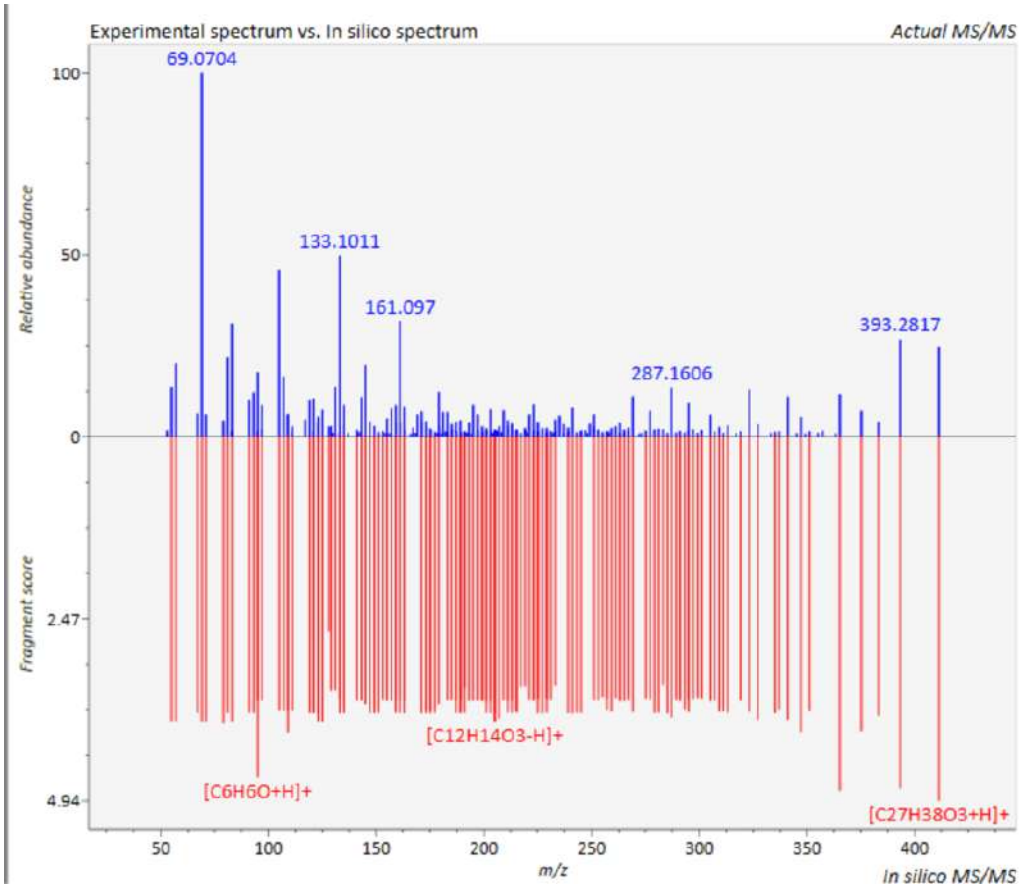


Gambar 4.13 Kromatogram UHPLC-HRMS pada ionisasi positif. A. Kromatogram, B. Spektrum MS senyawa isolat menunjukkan *m/z* 411,29 $[M+H]^+$.

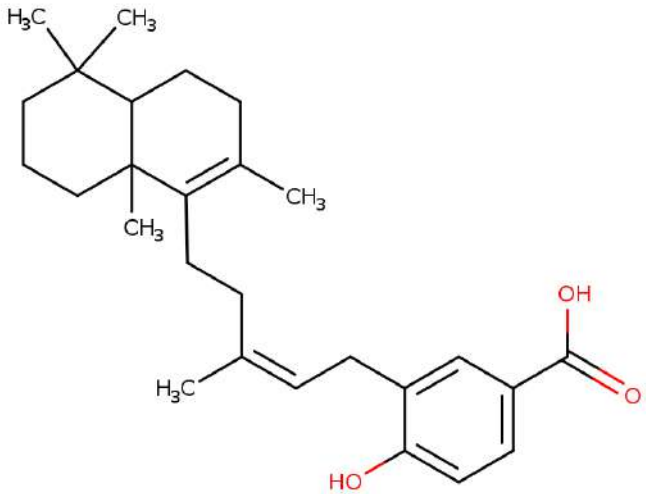


Gambar 4.14 Kromatogram UHPLC-HRMS pada ionisasi negatif. A Kromatogram, B. Spektrum MS senyawa isolat menunjukkan *m/z* 409, 27 $[M-H|^{-}$

Hasil analisis menggunakan UHPLC-HRMS menunjukkan bahwa senyawa isolat memiliki *m/z* 411,29 $[M+H|^{+}$ dan *m/z* 409, 27 $[M-H|^{-}$. Berdasarkan analisis fragmentasi MS/MS dengan MS-Finder, didapatkan senyawa putatif yaitu *subersic acid* ($C_{27}H_{38}O_3$). Senyawa tersebut merupakan turunan senyawa diterpenoid. Hasil fragmentasi dapat dilihat pada **Gambar 4.15** sedangkan struktur senyawa putatif dari hasil analisis dapat dilihat pada **Gambar 4.16.**



Gambar 4.15 Perbandingan fragmentasi senyawa putatif *subersic acid* dengan *database* yang tersedia pada MS-Finder.



Gambar 4.16 Struktur kimia *subersic acid*

Penelitian terkait senyawa diterpenoid dengan aktivitas antimikroba telah banyak dilaporkan diantaranya *demethylinuroyleanol* (Abdissa *et al.*, 2017)*, plectranthroyleanone B* (Nganou *et al.*, 2018), sugiol (Mothana *et al.*, 2019), *atranone Q* (Yang *et al.*, 2019), dan *noscomin* (Jaki *et al.*, 1999). Namun untuk senyawa *subersic acid* yang merupakan turunan dari diterpenoid belum pernah dilaporkan terkait aktivitasnya sebagai antimikroba. *Subersic acid* yang telah dilaporkan adalah bersumber dari *sponge Subera* sp. yang berasal dari Papua (Carroll *et al.*, 2001). Aktivitas biologis senyawa *subersic acid* yang sudah pernah dilaporkan diantaranya sebagai antiinflamasi dengan mekanisme sebagai inhibitor *15-lipoxygenase* dan inhibitor *MAPKAP kinase 2* (Basabe *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2004). Penelitian ini memberikan perspektif baru terhadap potensi *subersic acid* yang diisolasi dari jamur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 sebagai antimikroba.

Senyawa putatif yang diisolasi dari kultur endofit *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 tidak menunjukkan aktivitas terhadap mikroba uji *E. coli* tetapi menunjukkan aktivitas terhadap *B. subtilis* (KHM 0,97 ppm), *S. aureus* (KHM 7,81 ppm), dan *C. albicans* (KHM 200 ppm). Endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 merupakah genus kapang endofit yang pertama kali dilaporkan telah diisolasi dari tanaman *H. cordatta*. Hal tersebut membuat penelitian ini sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut dalam pengembangan kandidat antimikroba baru (Tamhid *et al.*, 2024).

BAB V
Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengisolasi senyawa aktif dari kultur *Ceratobasidium* sp. galur HCS-3 yaitu senyawa putatif *subersic acid* ($C_{27}H_{38}O_3$) dengan *m/z* 411,29 $[M+H]^+$ dan *m/z* 409,29 $[M-H]^-$ dengan dengan kemurnian 92,62%. Senyawa tersebut merupakan turunan diterpenoid yang memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap *B. subtilis* (KHM 0,97 ppm; KBM 1,9 ppm)*, S. aureus* (KHM 7,81 ppm; KBM 15,63 ppm) dan *C. albicans* (KHM 200 ppm; KBM 400 ppm).

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengembangan metode fermentasi yang lebih efektif untuk mendapatkan senyawa target dengan rendemen yang lebih banyak. Perlu dilakukan karakterisasi lanjut terhadap senyawa putatif menggunakan spektroskopi NMR dan IR untuk memastikan struktur senyawa yang lebih definitif.

DAFTAR PUSTAKA

Abdissa, N., Frese, M., & Sewald, N. (2017). *Antimicrobial Abietane-Type Diterpenoids from Plectranthus punctatus*. 1–11. https://doi.org/10.3390/molecules22111919

Adimpong, D. B., Sørensen, K. I., Thorsen, L., Stuer-Lauridsen, B., Abdelgadir, W. S., Nielsen, D. S., Derkx, P. M. F., & Jespersen, L. (2012). *Antimicrobial susceptibility of bacillus strains isolated from primary starters for african traditional bread production and characterization of the bacitracin operon and bacitracin biosynthesis. Applied and Environmental Microbiology*, *78*(22), 7903–7914. https://doi.org/10.1128/AEM.00730-12

Ahsan, T., Zang, C., Yu, S., Pei, X., Xie, J., Lin, Y., Liu, X., & Liang, C. (2022). *Screening, and Optimization of Fermentation Medium to Produce Secondary Metabolites from Bacillus amyloliquefaciens, for the Biocontrol of Early Leaf Spot Disease, and Growth Promoting Effects on Peanut (Arachis hypogaea L.). Journal of Fungi*, *8*(11). https://doi.org/10.3390/jof8111223

Angraini, N., & Desmaniar, P. (2020). *Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. Jurnal Penelitian Sains*, *22*(2), 69. https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.583

Aramsirirujiwet, Y., Gumlangmak, C., Kitpreechavanich, V., & Ad. (2016). S*tudies on Antagonistic Effect Against Plant Pathogenic Fungi from Endophytic Fungi Isolated from Hottuynia cordata Thunb. and Screening for Siderophore and Indole-3-Acetic Acid Production. KKU Res. J*, *21*(1), 55–66. http://

Armerego, W., & Chai, C. (2003). *Purification of Laboratory Chemicals 5th edition*.

Basabe, P., Diego, A., Delgado, S., Díez, D., Marcos, I. S., & Urones, J. G. (2003). *Short and efficient synthesis of (+)-subersic acids. Tetrahedron, 59*(46), 9173–9177. https://doi.org/10.1016/j.tet.2003.09.048

Carroll, J., Jonsson, E. N., Ebel, R., Hartman, M. S., Holman, T. R., & Crews, P. (2001). *Probing sponge-derived terpenoids for human 15-lipoxygenase inhibitors. Journal of Organic Chemistry*, *66*(21), 6847–6851. https://doi.org/10.1021/jo015784t

Chen, B., Wang, M., Hu, Y., Lin, Z., Yu, R., & Huang, L. (2011). *Preliminary study on promoting effects of endophytic fungi to growth of Rehmannia glutinosa. Chin. J. Chin. Mater. Med. 36*, *31*(2), 1137–1140. https://doi.org/10.4268/cjcmm20110906

Chen, H., Yang, C., Ke, T., Zhou, M., Li, Z., Zhang, M., Gong, G., & Hou, T. (2015). *Antimicrobial activity of secondary metabolites from Streptomyces sp. K15, an endophyte in Houttuynia cordata Thunb. Natural Product Research*, *29*(23), 2223–2225. https://doi.org/10.1080/14786419.2014.1003134

Chen, Q., Wang, J., Gao, Y., Gao, X., & Yan, P. (2023). *Optimization of Fermentation Conditions and Product Identification of a Saponin-Producing Endophytic Fungus*.

Chen, W., Wang, J., Song, J., Sun, Q., Zhu, B., & Qin, L. (2023). *Exogenous and Endophytic Fungal Communities of Dendrobium nobile Lindl. across Different Habitats and Their Enhancement of Host Plants' Dendrobine Content and Biomass Accumulation. ACS Omega*, *8*(13), 12489–12500. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00608

Cheng, D., Sun, L., Zou, S., Chen, J., Mao, H., Zhang, Y., Liao, N., & Zhang, R. (2019). *Antiviral effects of houttuynia cordata polysaccharide extract on murine norovirus-1 (MNV-1) - A human norovirus surrogate. Molecules*, *24*(9). https://doi.org/10.3390/molecules24091835

Chiow, K. H., Phoon, M. C., Putti, T., Tan, B. K. H., & Chow, V. T. (2016). *Evaluation of*

antiviral activities of Houttuynia cordata Thunb. extract, quercetin, quercetrin and cinanserin on murine coronavirus and dengue virus infection. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *9*(1), 1–7. https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.12.002

Chiu, S., Wang, T., Belski, M., & Abourashed, E. A. (2017). *HPLC-Guided Isolation, Purification and Characterization of Phenylpropanoid and Phenolic Constituents of Nutmeg Kernel (Myristica fragrans)*. *11*(4), 483–488.

Collina, M., Merighi, M., Turan, C., Pirondi, A., Minuto, G., & Brunelli, A. (2016). *First Report of Ceratobasidium sp (AG-A and AG-G) Causing Root Rot and Stem Canker of Common Bean in Mexico*. *Plant Disease*, *100*(8), 2023. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0237-PDN

Crutchfield, C. A., & Clarke, W. (2014). *Present and Future Applications of High Resolution Mass Spectrometry in the Clinic*. *2*(2), 1–12. https://doi.org/10.15190/d.2014.9

Fiorelia, N. E., Wibowo, A. D., Lae, N. L., & Ang, A. (2022). *Types of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Columns : a Review*. *5*(1), 1–16.

Fu, J., Dai, L., Lin, Z., & Lu, H. (2013). *Houttuynia cordata Thunb: A Review of Phytochemistry and Pharmacology and Quality Control. Chinese Medicine*, *04*(03), 101–123. https://doi.org/10.4236/cm.2013.43015

Gonda, S. (2022). *Correlations Between the Metabolome and the Endophytic Fungal Metagenome Suggests Importance of Various Metabolite Classes in Community Assembly in Horseradish (Armoracia rusticana , Brassicaceae) Roots*. *13*(June), 1–19. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.921008

Gong, A., Zhou, T., Xiao, C., Jiang, W., Zhou, Y., Zhang, J., Liang, Q., Yang, C., Zheng, W., & Zhang, C. (2019). *Association between dipsacus saponin VI level and diversity of endophytic fungi in roots of Dipsacus asperoides*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*(3), 1–14. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2616-y

Hung, P. Y., Ho, B. C., Lee, S. Y., Chang, S. Y., Kao, C. L., Lee, S. S., & Lee, C. N. (2015). *Houttuynia cordata targets the beginning stage of herpes simplex virus infection*. *PLoS ONE*, *10*(2), 1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115475

Jaki, B., Orjala, J., Sticher, O., & Iwang, D. (1999). *A novel extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium Nostoc commune. Journal of Natural Products*, *62*(3), 502–503. https://doi.org/10.1021/np980444x

Jiang, Y., Wu, J., Kawagishi, H., Jiang, C., Zhou, Q., Tong, Z., Tong, Y., & Wang, P. (2022). *Study on Secondary Metabolites of Endophytic Fungus, Aspergillus fumigatus, from Crocus sativus L. Guided byUHPLC-HRMS/MS-Based Molecular Network*. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2022*. https://doi.org/10.1155/2022/7067665

Kavanagh, K. (2005). *Fungal Fermentation Systems and Products*. In *Fungi: Biology and Applications* (Issue February). https://doi.org/10.1002/0470015330.ch4

Kemenkes RI. (2011). Modul Penggunaan Obat Rasional. *Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.*

Lai, K. C., Chiu, Y. J., Tang, Y. J., Lin, K. L., Chiang, J. H., Jiang, Y. L., Jen, H. F., Kuo, Y. H., Agamaya, S., Chung, J. G., & Yang, J. S. (2010). *Houttuynia cordata thunb extract inhibits cell growth and induces apoptosis in human primary colorectal cancer cells. Anticancer Research*, *30*(9), 3549–3556.

Leiva, A. M., Pardo, J. M., Arinaitwe, W., Newby, J., Vongphachanh, P., Chittarath, K., Oeurn, S., Thi Hang, L., Gil-Ordóñez, A., Rodriguez, R., & Cuellar, W. J. (2023). *Ceratobasidium sp. is associated with cassava witches' broom disease, a re-emerging threat to cassava cultivation in Southeast Asia. Scientific Reports*, *13*(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-023-49735-5

Li Jiakui, Rehman Ur, Zhang Hui, Kashif Iqbal Muhammad, Mehmood Khalid, Huang Shucheng, & Nabi Fazul. (2017). *Antibacterial Effect of the Water Extract of Houttuynia*

Cordata Water Extract Against Multi-Drug Resistant Escherichia Coli. J Trop Med Public Health, *48*(6), 1260.

Liu, X., Tian, J., Pan, Y., Li, Z., Zhou, Z., Pan, Z., & Tai, H. (2022). *Structural Characterization and Biological Activity of Polysaccharides from Stems of Houttuynia cordata*.

López, Q. K., Castro, C. A., Curillo, D. L., Chica, E. J., Portilla, J. V., & Peúa, D. F. (2021). *Viability and Infectivity of Ceratobasidium Sp. Encapsulated in Alginate Beads Under Different Storage Conditions. Lankesteriana*, *21*(3), 333–340. https://doi.org/10.15517/LANK.V21I3.49398

Ludwig-Muller, J. (2015). *Plants and endophytes : equal partners in secondary metabolite production ?* https://doi.org/10.1007/s10529-015-1814-4

Mahfut, Indrianto, A., Somowiyarjo, S., & Daryono, B. S. (2020). *Molecular phylogeny of orchids mycorrhiza isolated from native tropical orchids in Indonesia*. *Malaysian Journal of Microbiology*, *161*(2), 68–72. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Meng, Z., Wen, T., Kang, J., Lei, B., & Hyde, K. D. (2015). *Efficacy of Houttuynia cordata Lour extracts against herpes simplex virus infection*. *Chiang Mai Journal of Science*, *42*(2), 317–330.

Miyauchi, S., Kiss, E., Kuo, A., Drula, E., Kohler, A., Sánchez-García, M., Morin, E., Andreopoulos, B., Barry, K. W., Bonito, G., Buée, M., Carver, A., Chen, C., Cichocki, N., Clum, A., Culley, D., Crous, P. W., Fauchery, L., Girlanda, M., … Martin, F. M. (2020). *Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits. Nature Communications*, *11*(1), 1–17. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18795-w

Mothana, R. A., Khaled, J. M., El-gamal, A. A., Noman, O. M., Kumar, A., Alajmi, M. F., Al-rehaily, A. J., & Al-said, M. S. (2019). *Comparative evaluation of cytotoxic , antimicrobial and antioxidant activities of the crude extracts of three Plectranthus species grown in Saudi Arabia. Saudi Pharmaceutical Journal*, *27*(2), 162–170. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.09.010

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2014. *J Nat Prod*, *79*, 629–661. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055

Nganou, B. K., Tedonkeu, A. T., Awouafack, M. D., Tene, M., Ito, T., Tane, P., & Morita, H. (2018). *Three New Abietane-Type Diterpenoids from Plectranthus africanus and Their Antibacterial Activities*. 59–64.

Nongkhlaw, F. M. W., & Joshi, S. R. (2015). *Investigation on the bioactivity of culturable endophytic and epiphytic bacteria associated with ethnomedicinal plants*. *Journal of Infection in Developing Countries*, *9*(9), 954–961. https://doi.org/10.3855/jidc.4967

Oberwinkler, F., Riess, K., Bauer, R., Kirschner, R., & Garnica, S. (2013). *Taxonomic re-evaluation of the Ceratobasidium-Rhizoctonia complex and Rhizoctonia butinii, a new species attacking spruce. Mycological Progress*, *12*(4), 763–776. https://doi.org/10.1007/s11557-013-0936-0

Octaviani, M., Ameliah, W. Y., Frimayanti, N., Djohari, M., & Fadhli, H. (2022). *Isolation of Endophytic Fungus from Leaves of Uncaria cordata (Lour.) Merr and Antibacterial Activity Against Propionibacterium acnes and Escherichia coli*. *Borneo Journal of Pharmacy*, *5*(3), 279–287. https://doi.org/10.33084/bjop.v5i3.3692

Radiastuti, N., Bahalwan, H. A., Susilowati, D. N., & Davi, I. (2019). *Phylogenetic study of endophytic fungi associated with Centella asiatica from Bengkulu and Malaysian accessions based on the ITS rDNA sequence. Biodiversitas*, *20*(5), 1248–1258. https://doi.org/10.13057/biodiv/d200503

Rahman, K. A. M. azzam A., & Ibrahim, D. (2019). *Ceratobasidium ramicola IBRLCM127, an endophytic fungus isolated from Curcuma mangga Valeton & Zijp with strong anti-*

candidal activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *9*(11), 86–92. https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.91111

Rahman, K. A. M. azzam A., & Ibrahim, D. (2020). *The evaluation of Antibacterial Activity of Fungal Endophyte Ceratobasidium ramicola IBRLCM127 Colonizing in Rhizomes of Medicinal Plant, Curcuma mangga Valeton & Zijp*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *596*(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/596/1/012083

Rubin, J. E., Ball, K. R., Chirino-Trejo, M., & de Silva, E. D. (2011). *Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius isolated from various animals*. *Canadian Veterinary Journal*, *52*(2), 162–164.

Ruiz Orduna, A., Husby, E., Yang, C. T., Ghosh, D., & Beaudry, F. (2017). *Detection of meat species adulteration using high-resolution mass spectrometry and a proteogenomics strategy*. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *34*(7), 1110–1120. https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1329951

Sayed, E., Microbiology, B. M. C., Sayed, A. S. A. El, Shindia, A., Ammar, H., Seadawy, M. G., & Khashana, S. A. (2024). *Bioprocessing of Epothilone B from Aspergillus fumigatus under solid state fermentation : Antiproliferative activity , tubulin polymerization and cell cycle analysis*. *BMC Microbiology*, 1–23. https://doi.org/10.1186/s12866-024-03184-w

Sharma, S., Sharma, S., Sharma, P. S., & Iwang, D. (2021). *Optimization Of Fermentation Conditions For Enhanced Production Of Secondary Metabolite From Endophytic Fungi Of Berberis Aristata*. *8*(6), 3353–3368.

Shi, L., Zhao, Z., Yang, L., Ding, G., & Xing, X. (2023). *Bioactive steroids from seed germination supporting fungus (Ceratobasidium GS2) of the terrestrial orchid Gymnadenia conopsea. Mycology*, *14*(4), 371–380. https://doi.org/10.1080/21501203.2023.2254893

Shim, S. Y., Seo, Y. K., Park, J. R., & Iwang. (2009). *Down-regulation of FcεRI expression by Houttuynia cordata thunb extract in human basophilic KU812F cells. Journal of Medicinal Food*, *12*(2), 383–388. https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0684

Talha, M. (2020). *Mass spectroscopes*. *December*.

Talukdar, R., Padhi, S., Rai, A. K., Masi, M., Evidente, A., Jha, D. K., Cimmino, A., & Tayung, K. (2021). *Isolation and Characterization of an Endophytic Fungus Colletotrichum coccodes Producing Tyrosol From Houttuynia cordata Thunb*. Using ITS2 RNA Secondary Structure and Molecular Docking Study. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*(June), 1–12. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650247

Talukdar, R., Wary, S., Mili, C., Roy, S., & Tayung, K. (2020). *Antimicrobial secondary metabolites obtained from endophytic fungi inhabiting healthy leaf tissues of Houttuynia cordata Thunb., an ethnomedicinal plant of Northeast India*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *10*(9), 99–106. https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10912

Tamhid, H., Sukmarini, L., Fitria, A., Davi Setiawan, I., Wahyu Wardana, A., Ilyas, M., Pramisandi, A., & Triastuti, A. (2024). *Biodiversity and Bioprospecting of Fungal Endophytes from Houttuynia cordata Thunb*. as a Potential Antibacterial and Anticancer Agent. *Chemistry and Biodiversity*. https://doi.org/10.1002/cbdv.202401705

Thixton, H. L., Esselman, E. J., Corey, L. L., & Zettler, L. W. (2020). *Further evidence of Ceratobasidium D.P. Rogers (Basidiomycota) serving as the ubiquitous fungal associate of Platanthera leucophaea (Orchidaceae) in the North American tallgrass prairie*. *Botanical Studies*, *61*(1). https://doi.org/10.1186/s40529-020-00289-z

Torabi, I., Sharififar, F., Izadi, A., & Ayatollahi Mousavi, S. A. (2022). *Inhibitory effects of different fractions separated from standardized extract of Myrtus communis L. against nystatin-susceptible and nystatin-resistant Candida albicans isolated from HIV positive patients*. *Heliyon*, *8*(3). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09073

Triastuti, A. (2020). *Fungal endophytes as the source of medicinal natural product Jamur endofit sebagai sumber obat bahan alam*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *16*(1), 1–95. http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF52

Truong, H. Van, & Hiep, N. H. (2020). *Bioactive compounds of Bacillus subtilis strain B237 isolated from the endophytic bacteria in Houttuynia cordata thunb by gas chromatography-mass spectrometry*. *Pharmaceutical and Chemical Journal*, *7*(4), 1–7.

Truong, H. Van, Hiep, N. H., Kien, N. T., & Phuong, N. M. (2020). *Research on Endophytic Bacteria in Houttuynia Cordata Thunb . With Antibacterial Activity against Staphylococcus Aureus from Human Furuncles*. *11*, 81–92.

Ventola, L. (2015). *The Antibiotic Resistance Crisis*. *Comprehensive Biochemistry*, *11*(4), 181–224. https://doi.org/10.1016/B978-1-4831-9711-1.50022-3

Verma, S. K., Chen, Q., James, F., & Davi, I. (2022). *Evaluation of colonization and mutualistic endophytic symbiosis of Escherichia coli with tomato and Bermuda grass seedlings. PeerJ*, *10*, 1–14. https://doi.org/10.7717/peerj.13879

WHO. (2020). WHO, "*Antimicrobials: Handle with Care" in 2020*. *World Health Organization*, 1–6.

WHO. (2023). *Traditional medicine*. *2013*(December 2013), 1–4.

Widjajanti, H., Nurnawati, E., Muharni, & Zahwa, E. D. (2022). Optimization of Antibacterial *Production of Endophytic Fungi with Various Sources of C, N, and pH using The Response Surface Methodology. Science and Technology Indonesia*, *7*(2), 149–157. https://doi.org/10.26554/sti.2022.7.2.149-157

Williams, D. E., Telliez, J. B., Liu, J., Tahir, A., Van Soest, R., & Andersen, R. J. (2004). *Meroterpenoid MAPKAP (MK2) inhibitors isolated from the Indonesian marine sponge Acanthodendrilla sp*. *Journal of Natural Products*, *67*(12), 2127–2129. https://doi.org/10.1021/np049808d

Yanarojana, M., Nararatwanchai, T., Thairat, S., & Tancharoen, S. (2017). *Antiproliferative Activity and Induction of Apoptosis in Human Melanoma Cells by Houttuynia cordata Thunb Extract*. *Anticancer Research*, *37*(12), 6619–6628. https://doi.org/10.21873/anticanres.12119

Yang, B., He, Y., Lin, S., Zhang, J., Li, H., Wang, J., Hu, Z., & Zhang, Y. (2019). *Antimicrobial Dolabellanes and Atranones from a Marine-Derived Strain of the Toxigenic Fungus Stachybotrys chartarum*. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00305

YE, H. T., LUO, S. Q., YANG, Z. N., WANG, Y. S., & DING, Q. (2021). *Latent pathogenic fungi in the medicinal plant houttuynia cordata thunb. are modulated by secondary metabolites and colonizing microbiota originating from soil*. *Polish Journal of Microbiology*, *70*(3), 359–372. https://doi.org/10.33073/PJM-2021-034

Ye, H. T., Luo, S. Q., Yang, Z. N., Wang, Y. S., Ding, Q., Wang, K. F., Yang, S. X., & Wang, Y. (2021). *Endophytic fungi stimulate the concentration of medicinal secondary metabolites in houttuynia cordata thunb*. *Plant Signaling and Behavior*, *16*(9). https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1929731

Yin, Y., Wang, D., Wu, D., He, W., Zuo, M., Zhu, W., Xu, Y., & Wang, L. (2023). *Two New 4-Hydroxy-2-pyridone Alkaloids with Antimicrobial*.

Yingxue, Y., Wang, L., Zhao, B., Lin, Z., & Fan, Z. (2022). *Chemical Compositions of Houttuynia cordata Thunb. Volatile Oil and Its Analogues Attenuate Staphylococcus aureus Virulence by Targeting α-Hemolysin*. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, (hlm.13-22). https://doi.org/https://doi.org/10.1134/S1068162023010284

Zang, Y., Gong, Y., Gong, J., Liu, J., Chen, C., Gu, L., Zhou, Y., Wang, J., Zhu, H., & Zhang, Y. (2020). *Fungal Polyketides with Three Distinctive Ring Skeletons from the Fungus Penicillium canescens Uncovered by OSMAC and Molecular Networking Strategies*. *Journal of Organic Chemistry*, *85*(7), 4973–4980.

https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c00147

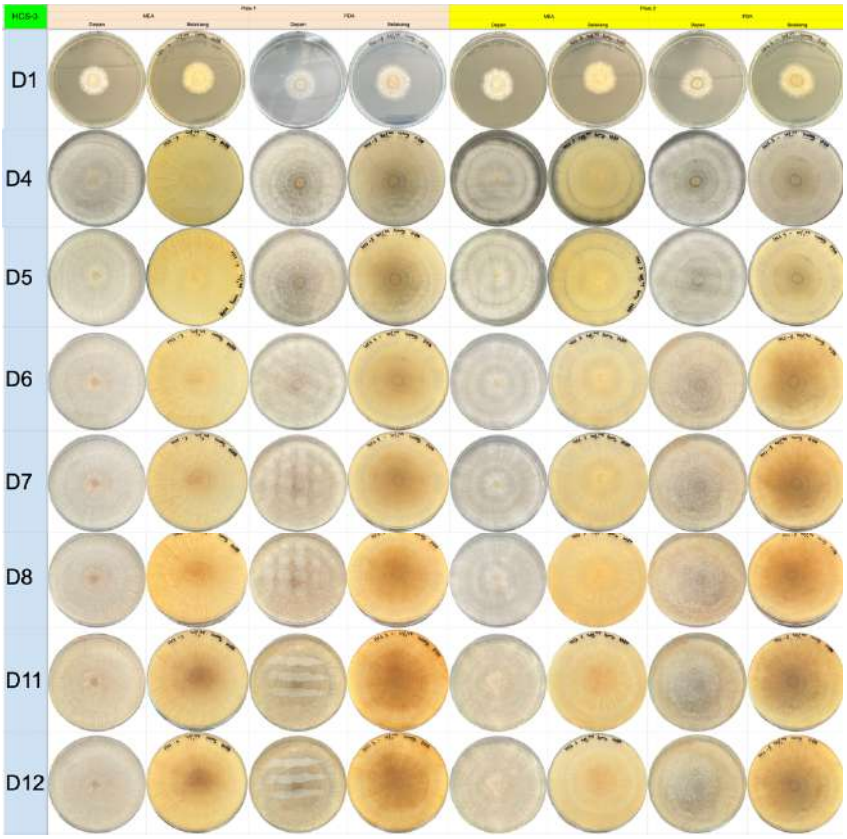
Zhang, Y., Li, Y., Chen, X., Meng, Z., & Guo, S. (2020). *Combined metabolome and transcriptome analyses reveal the effects of mycorrhizal fungus ceratobasidium sp. AR2 on the flavonoid accumulation in anoectochilus roxburghii during different growth stages*. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(2), 1–21. https://doi.org/10.3390/ijms21020564

Lampiran

Lampiran 1. Proses pembuatan media



Lampiran 2. Perkembangan endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 pada media PDA selama 12 hari



Lampiran 3. Inkubasi pada media PDB dengan fermentasi kocok



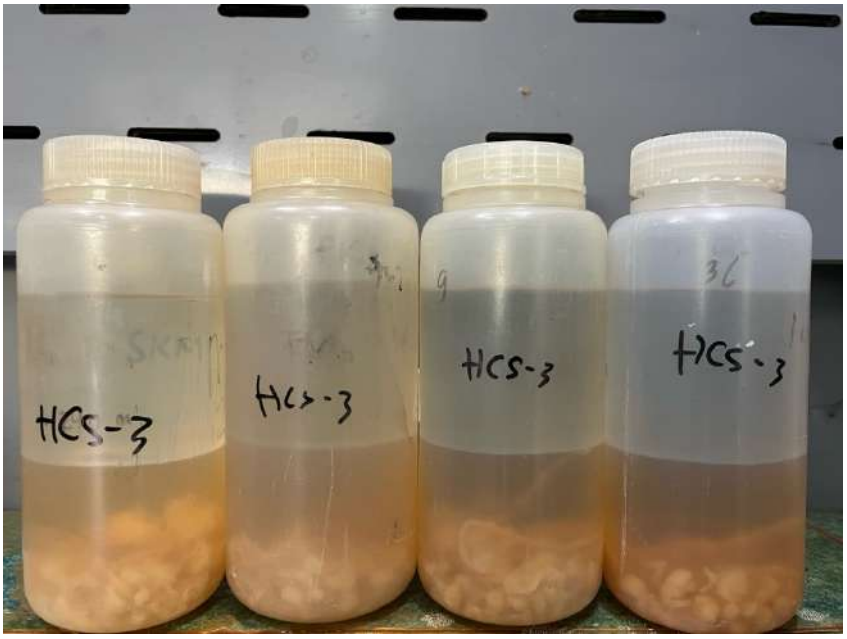
Lampiran 4. Perkembangan endofit *Ceratobacidium* sp. galur HCS-3 pada media PDB

Hari Ke-	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1			
2			
3			
4			

5	
6	
7	
8	

9	
10	

Lampiran 5. Proses ekstraksi 1L kultur endofit dalam media PDB



Lampiran 6. Proses ekstraksi kultur endofit dalam media PDB



Lampiran 7. Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka terhadap ekstrak etil asetat

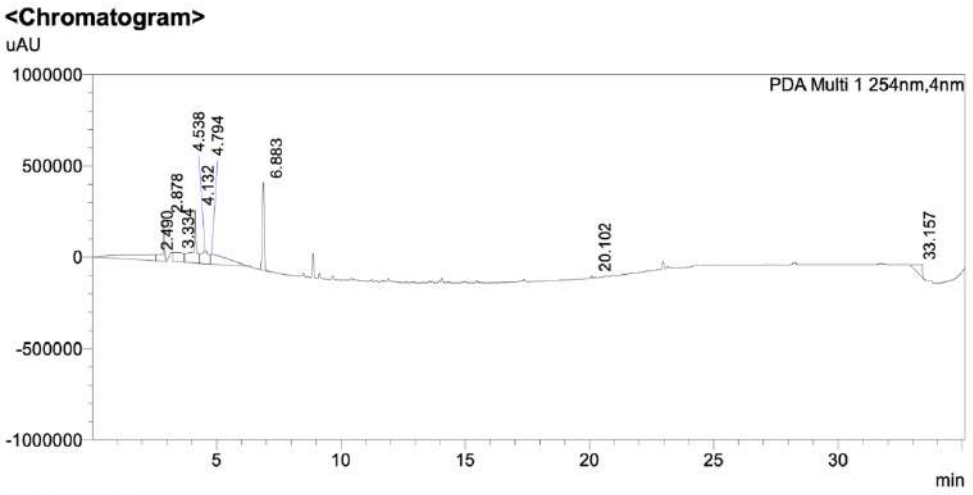


Lampiran 8. Hasil tampungan fraksinasi menggunakan HPLC preparatif untuk frakasinasi *time dependent*



Lampiran 9. Kromatogram HPLC analitik untuk kurva pertumbuhan

a. Hari ke-1 replikasi-1

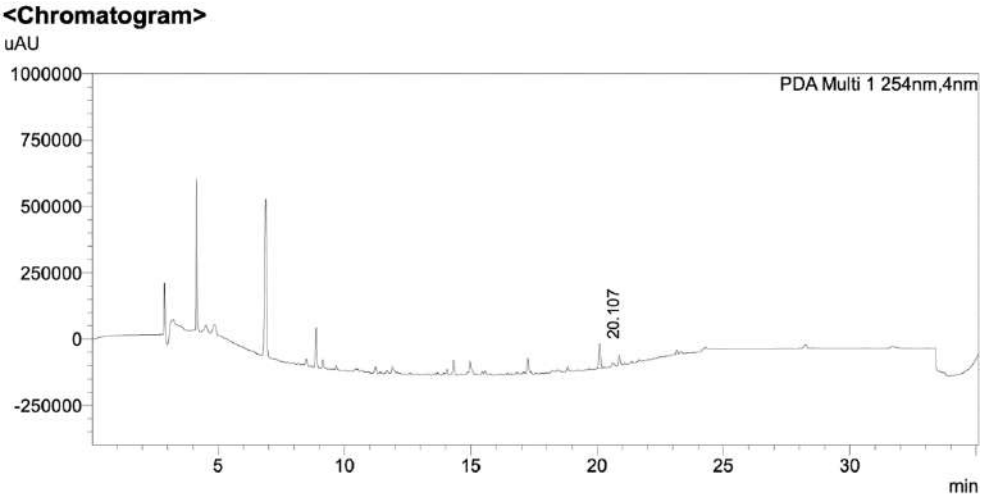


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.490	3063906	18.615	32462	2.579
2	2.878	1214245	7.377	235766	18.731
3	3.334	1437549	8.734	52109	4.140
4	4.132	2612623	15.873	288053	22.885
5	4.538	1480515	8.995	72540	5.763
6	4.794	2671875	16.233	51520	4.093
7	6.883	2748375	16.698	476286	37.839
8	20.102	42413	0.258	10199	0.810
9	33.157	1187710	7.216	39775	3.160
Total		16459211	100.000	1258710	100.000

b. Hari ke-1 replikasi-2

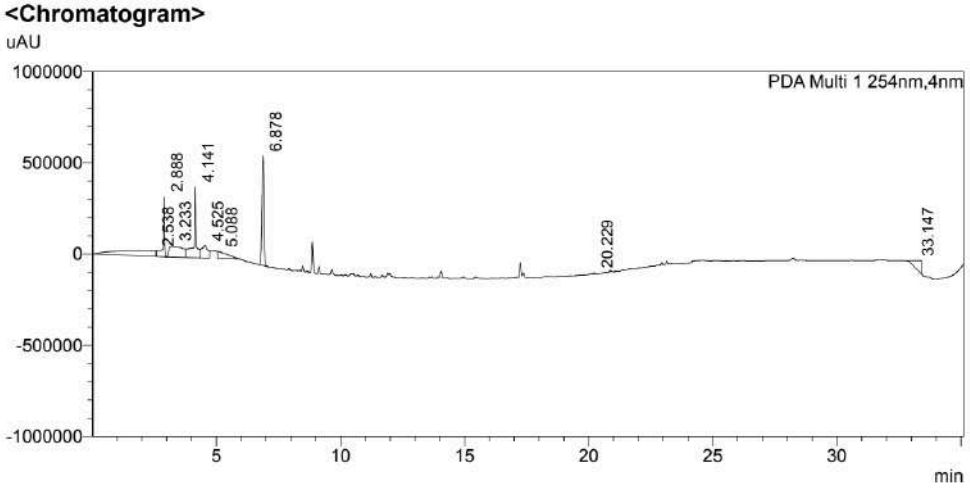


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	20.107	503012	100.000	94173	100.000
Total		503012	100.000	94173	100.000

c. Hari ke-1 replikasi-3

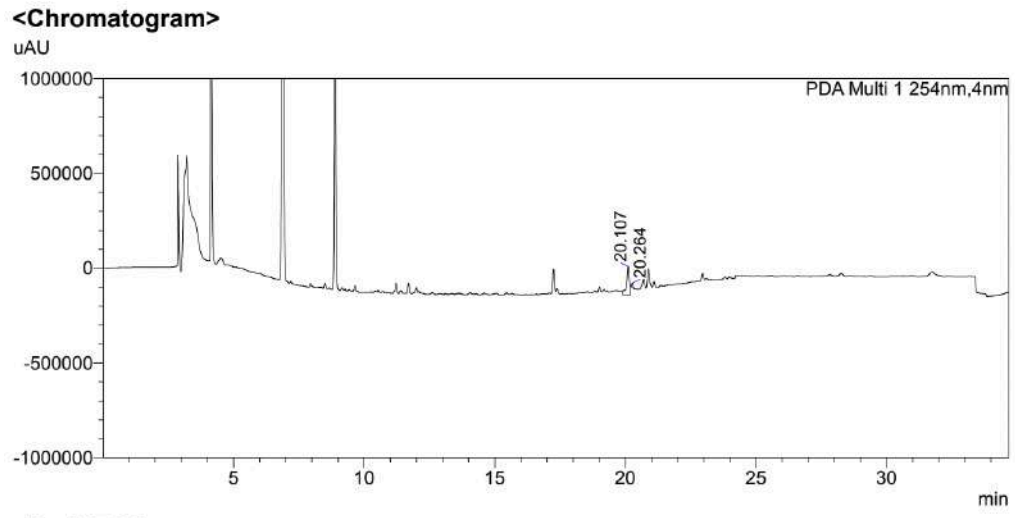


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.538	3121958	19.249	30873	1.998
2	2.888	1395093	8.602	324740	21.014
3	3.233	2205803	13.600	60773	3.933
4	4.141	2570087	15.846	382086	24.725
5	4.525	1293439	7.975	68644	4.442
6	5.088	1057952	6.523	38578	2.496
7	6.878	3427583	21.133	597965	38.695
8	20.229	16077	0.099	4425	0.286
9	33.147	1130986	6.973	37255	2.411
Total		16218977	100.000	1545340	100.000

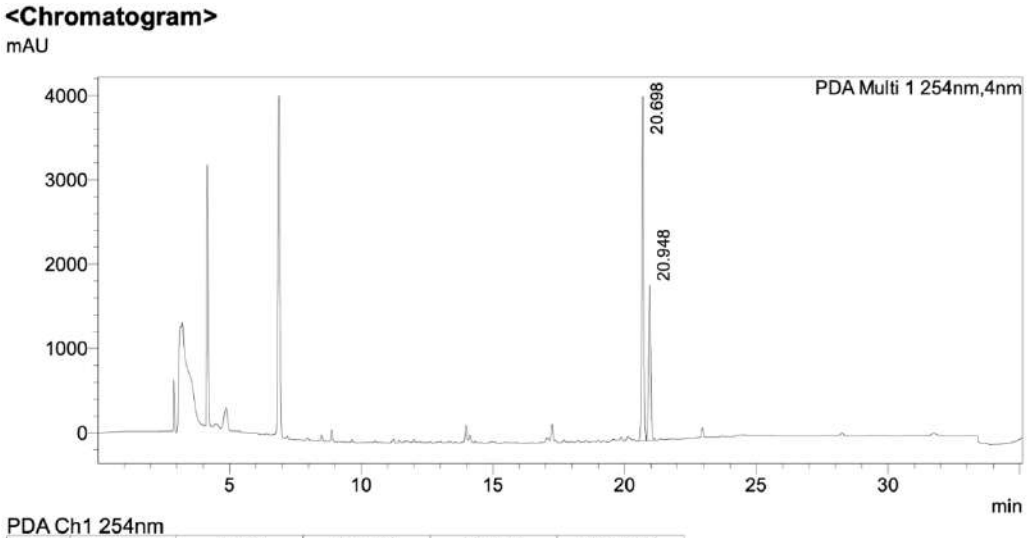
d. Hari ke-2 replikasi-1



PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	20.107	1158124	92.157	152197	86.511
2	20.264	98557	7.843	23730	13.489
Total		1256681	100.000	175927	100.000

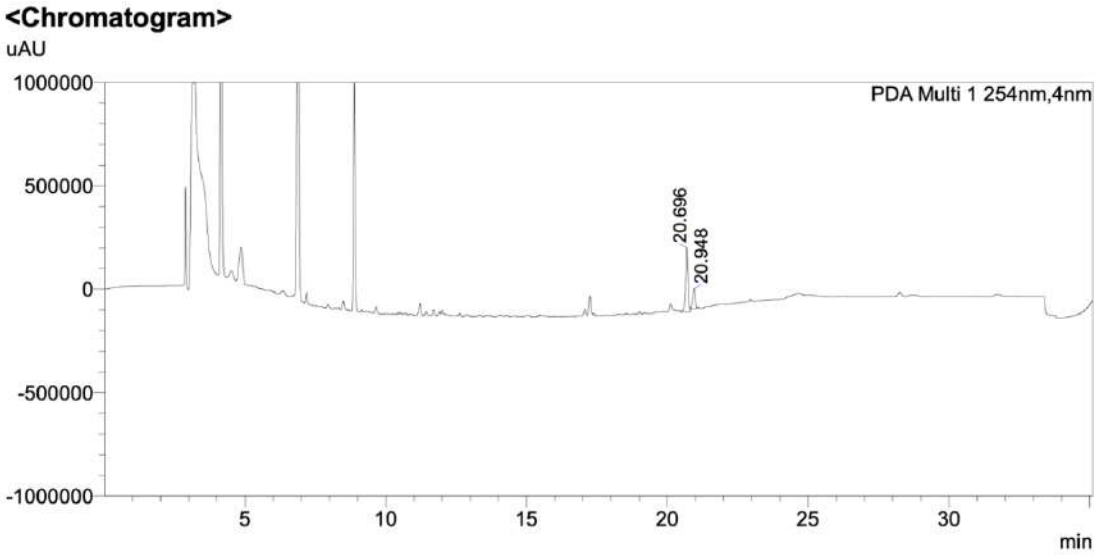
e. Hari ke-2 replikasi-2



PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	20.698	19712894	65.540	4069745	69.119
2	20.948	10364769	34.460	1818258	30.881
Total		30077663	100.000	5888002	100.000

f. Hari ke-2 replikasi-3



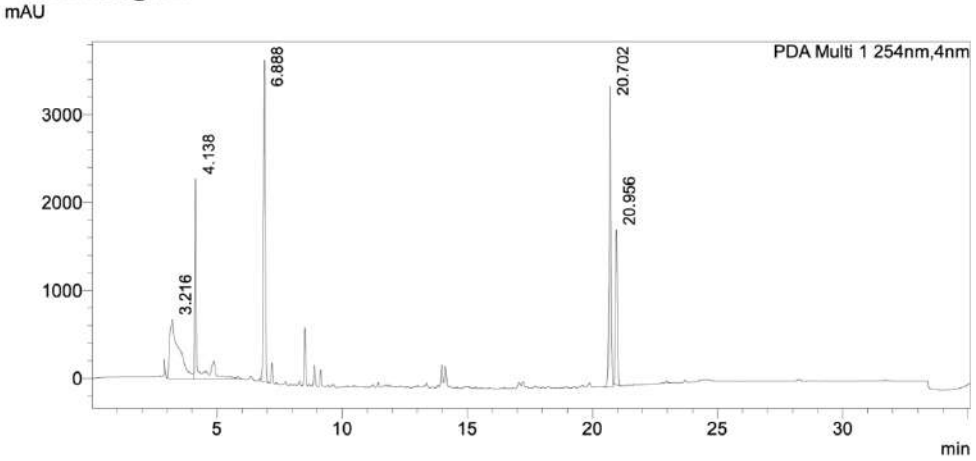
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	20.696	1861050	75.291	310540	76.449
2	20.948	610774	24.709	95667	23.551
Total		2471824	100.000	406207	100.000

g. Hari ke-3 replikasi-1

<Chromatogram>



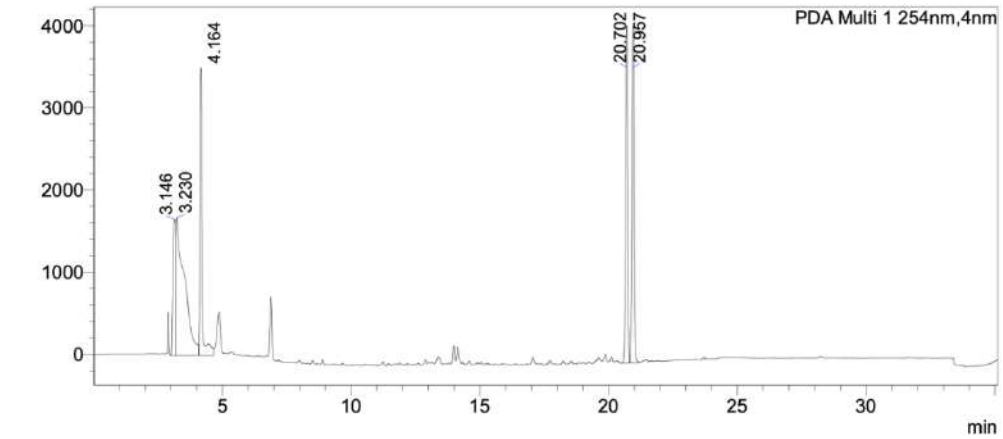
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.216	17198615	23.790	674488	5.758
2	4.138	11670801	16.144	2260078	19.296
3	6.888	18269440	25.271	3662113	31.266
4	20.702	15681351	21.691	3369344	28.766
5	20.956	9472751	13.103	1746887	14.914
Total		72292957	100.000	11712911	100.000

h. Hari ke-3 replikasi-2

<Chromatogram>



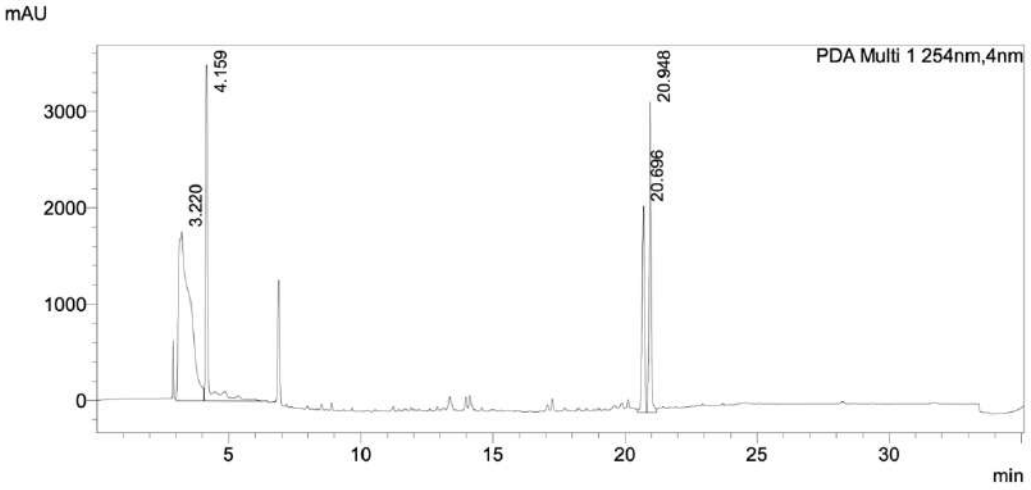
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.146	12735757	10.823	1650444	11.003
2	3.230	37895379	32.203	1673016	11.154
3	4.164	20673129	17.568	3479217	23.195
4	20.702	21786861	18.514	4097978	27.320
5	20.957	24585707	20.893	4099076	27.328
Total		117676832	100.000	14999731	100.000

i. Hari ke-3 replikasi-3

<Chromatogram>



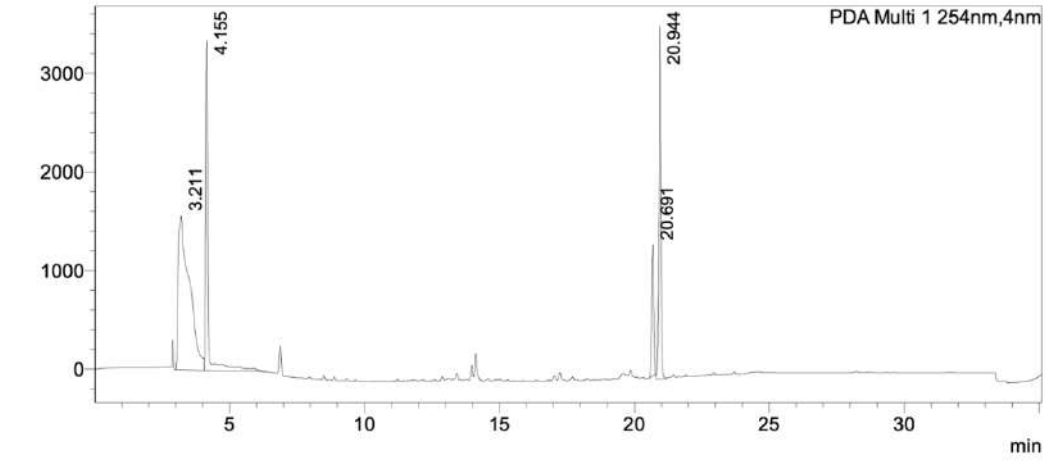
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.220	52917507	50.893	1755157	16.646
2	4.159	22759484	21.889	3491858	33.118
3	20.696	12060738	11.599	2138586	20.283
4	20.948	16239603	15.618	3158209	29.953
Total		103977333	100.000	10543810	100.000

j. Hari ke-4 replikasi-1

<Chromatogram>

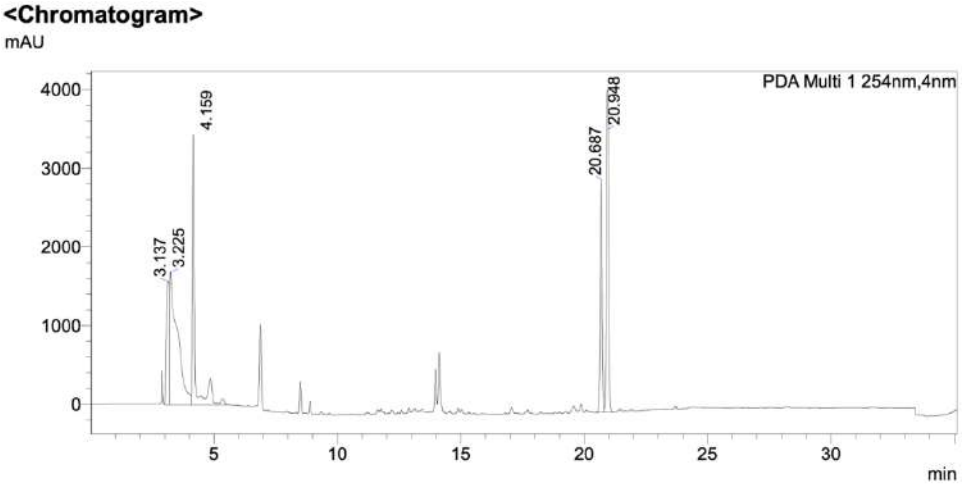


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.211	45137733	50.131	1561853	15.956
2	4.155	20851560	23.158	3331689	34.037
3	20.691	7119862	7.908	1324743	13.534
4	20.944	16929543	18.803	3570171	36.473
Total		90038698	100.000	9788455	100.000

k. Hari ke-4 replikasi-2

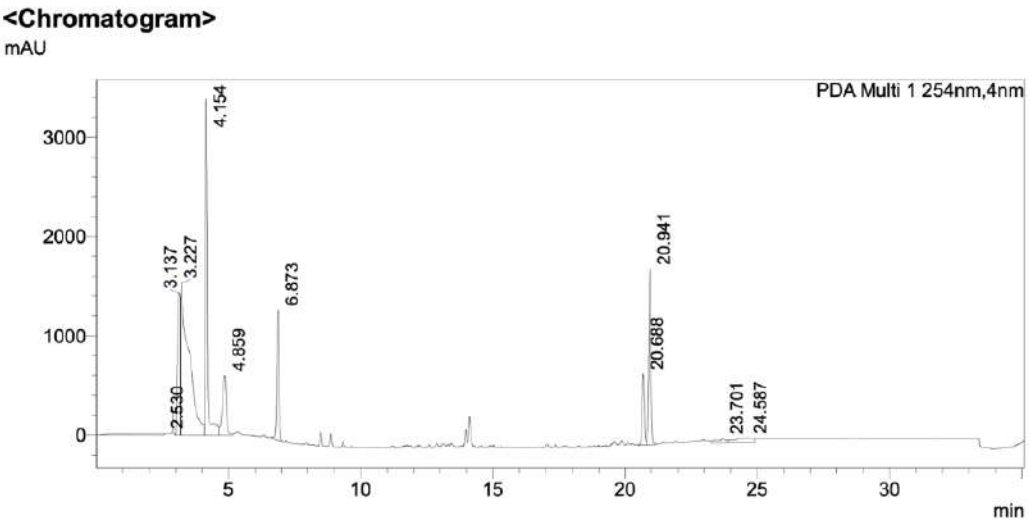


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.137	12840363	11.661	1569950	11.441
2	3.225	37023952	33.622	1683779	12.270
3	4.159	21056845	19.122	3433882	25.023
4	20.687	14626054	13.282	2940538	21.428
5	20.948	24569391	22.312	4094518	29.838
Total		110116605	100.000	13722666	100.000

l. Hari ke-4 replikasi-3



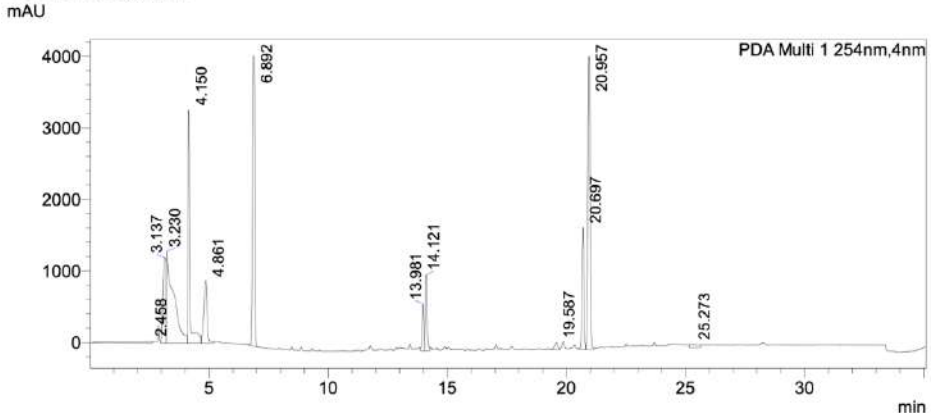
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.530	2137971	2.220	17922	0.166
2	3.137	11463219	11.905	1430219	13.217
3	3.227	32738957	34.000	1530893	14.148
4	4.154	18831448	19.557	3376874	31.207
5	4.859	6387044	6.633	599971	5.545
6	6.873	7373477	7.658	1307284	12.081
7	20.688	4059395	4.216	712832	6.588
8	20.941	9941291	10.324	1760522	16.270
9	23.701	1146124	1.190	41636	0.385
10	24.587	2211845	2.297	42758	0.395
Total		96290771	100.000	10820911	100.000

m. Hari ke-5 replikasi-1

<Chromatogram>



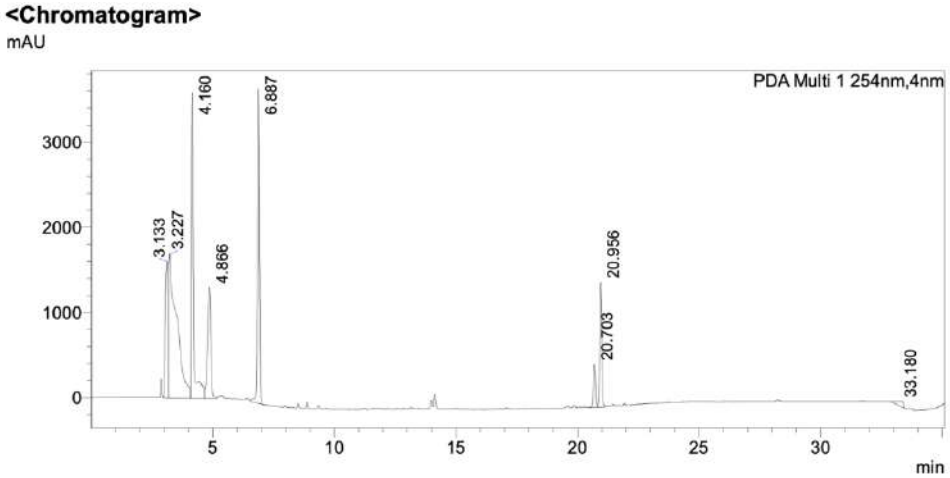
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.458	2573286	1.837	22494	0.123
2	3.137	10350116	7.388	1195388	6.521
3	3.230	26738096	19.086	1278934	6.977
4	4.150	17446953	12.454	3250224	17.730
5	4.861	8743224	6.241	869368	4.742
6	6.892	28467895	20.321	4053405	22.111
7	13.981	3223166	2.301	649075	3.541
8	14.121	5467725	3.903	1064182	5.805
9	19.587	1050431	0.750	102085	0.557
10	20.697	9528936	6.802	1702152	9.285
11	20.957	25280922	18.046	4094298	22.334
12	25.273	1222785	0.873	50412	0.275
Total		140093536	100.000	18332017	100.000

n. Hari ke-5 replikasi-2

<Chromatogram>



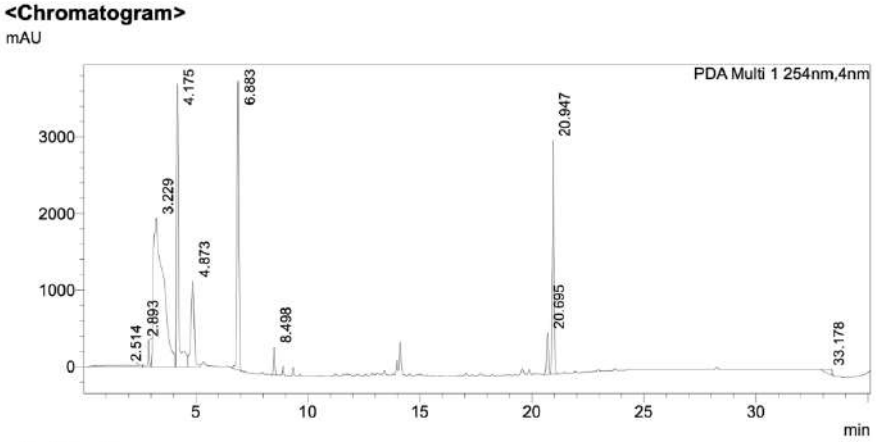
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.133	13154468	11.104	1599560	11.545
2	3.227	37826668	31.929	1686996	12.176
3	4.160	22918849	19.346	3586899	25.889
4	4.866	12816623	10.818	1302941	9.404
5	6.887	19596436	16.541	3688237	26.621
6	20.703	2810519	2.372	498711	3.600
7	20.956	8177214	6.902	1449982	10.466
8	33.180	1169529	0.987	41497	0.300
Total		118470307	100.000	13854823	100.000

o. Hari ke-5 replikasi-3

<Chromatogram>



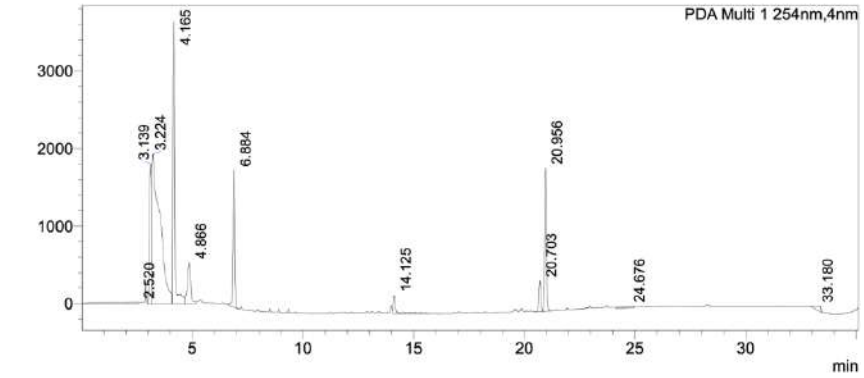
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.514	2138056	1.511	17547	0.119
2	2.893	1208530	0.854	333583	2.254
3	3.229	60311464	42.631	1936477	13.086
4	4.175	26288697	18.582	3688122	24.922
5	4.873	11339438	8.015	1117048	7.548
6	6.883	19466468	13.760	3756563	25.385
7	8.498	1563598	1.105	361610	2.444
8	20.695	3018812	2.134	537508	3.632
9	20.947	14918954	10.545	3006207	20.314
10	33.178	1219651	0.862	43928	0.297
Total		141473667	100.000	14798594	100.000

p. Hari ke-6 replikasi-1

<Chromatogram>



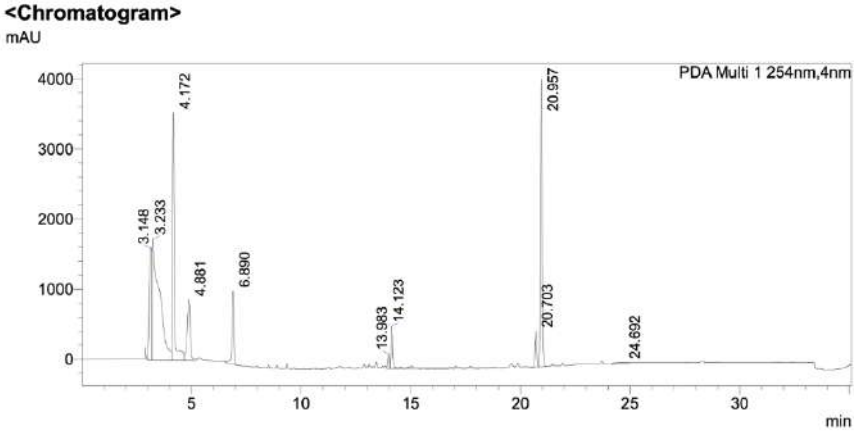
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.520	2165895	1.850	18411	0.151
2	3.139	13915249	11.888	1800789	14.803
3	3.224	45683650	39.028	1924072	15.817
4	4.165	23442091	20.027	3630168	29.842
5	4.866	5964182	5.095	529621	4.354
6	6.884	9886614	8.446	1753285	14.413
7	14.125	1427204	1.219	227938	1.874
8	20.703	2212831	1.890	390886	3.213
9	20.956	10254958	8.761	1828646	15.032
10	24.676	1023479	0.874	21904	0.180
11	33.180	1077747	0.921	39064	0.321
Total		117053900	100.000	12164784	100.000

q. Hari ke-6 replikasi-2

<Chromatogram>



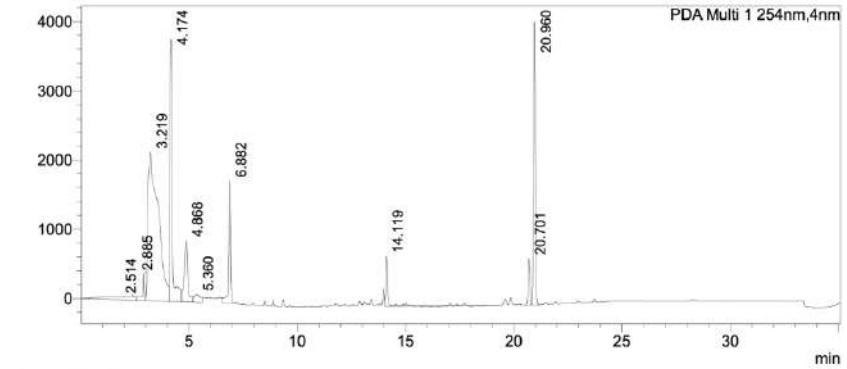
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.148	13050978	11.152	1597732	11.279
2	3.233	39125659	33.434	1729092	12.206
3	4.172	22072606	18.861	3519479	24.845
4	4.881	8829030	7.545	863687	6.097
5	6.890	6375079	5.448	1036556	7.317
6	13.983	1037697	0.887	207822	1.467
7	14.123	1372864	1.173	598557	4.225
8	20.703	2845574	2.432	505068	3.565
9	20.957	21275770	18.180	4084385	28.833
10	24.692	1040007	0.889	23411	0.165
Total		117025263	100.000	14165790	100.000

r. Hari ke-6 replikasi-3

<Chromatogram>



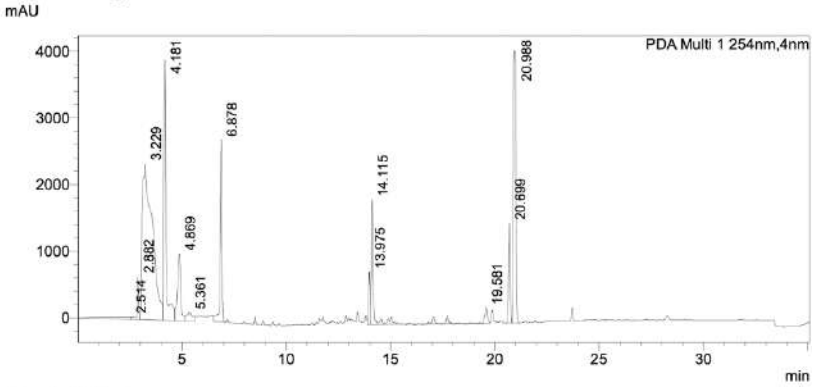
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.514	3910165	2.489	40614	0.279
2	2.885	1774070	1.129	368070	2.532
3	3.219	70100249	44.618	2138389	14.710
4	4.174	29499829	18.776	3782088	26.018
5	4.868	10126334	6.445	880387	6.056
6	5.360	2135725	1.359	106223	0.731
7	6.882	10765969	6.852	1755193	12.074
8	14.119	1672708	1.065	716344	4.928
9	20.701	3768375	2.399	664749	4.573
10	20.960	23357704	14.867	4084427	28.098
Total		157111127	100.000	14536485	100.000

s. Hari **ke-7 replikasi-1**

<Chromatogram>



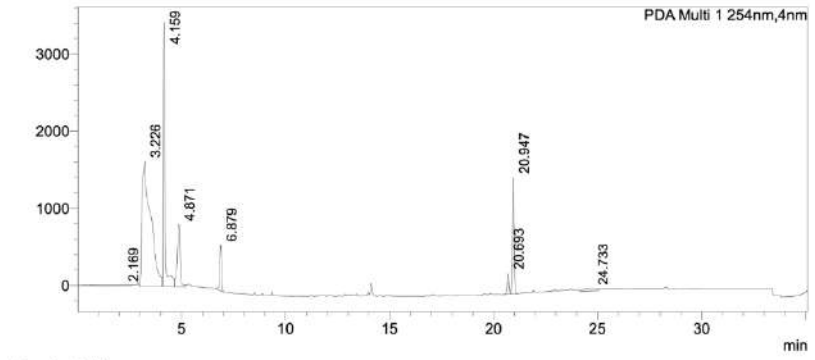
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.514	3645596	1.783	37584	0.196
2	2.882	2396824	1.172	633786	3.306
3	3.229	78633941	38.450	2331818	12.163
4	4.181	32812235	16.044	3897063	20.327
5	4.869	11416250	5.582	1000653	5.219
6	5.361	2385028	1.166	122177	0.637
7	6.878	15335526	7.499	2716595	14.170
8	13.975	3789663	1.853	786522	4.103
9	14.115	8590433	4.200	1855919	9.681
10	19.581	2145702	1.049	229788	1.199
11	20.699	8313850	4.065	1484632	7.744
12	20.988	35046469	17.137	4075070	21.256
Total		204511518	100.000	19171607	100.000

t. Hari ke-7 replikasi-2

<Chromatogram>

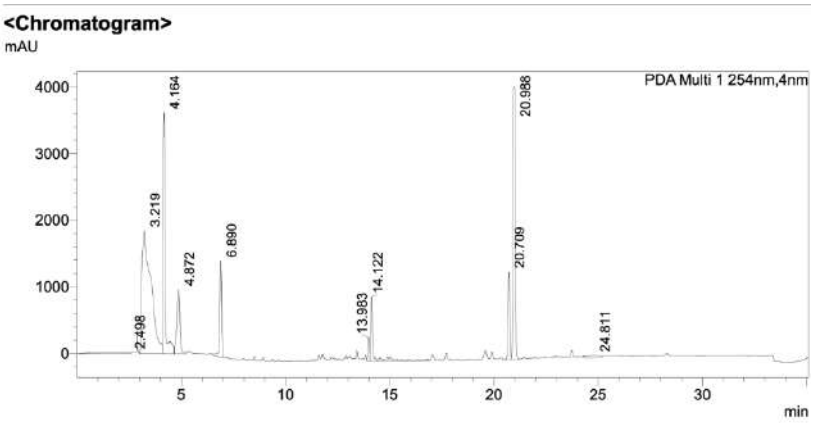


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.169	1621982	1.758	15962	0.193
2	3.226	47008006	50.945	1619478	19.589
3	4.159	20567598	22.290	3428489	41.471
4	4.871	8358159	9.058	812519	9.828
5	6.879	3399151	3.684	588439	7.118
6	20.693	1534390	1.663	271272	3.281
7	20.947	8441505	9.149	1500277	18.147
8	24.733	1340671	1.453	30759	0.372
Total		92271461	100.000	8267195	100.000

u. Hari ke-7 replikasi-3

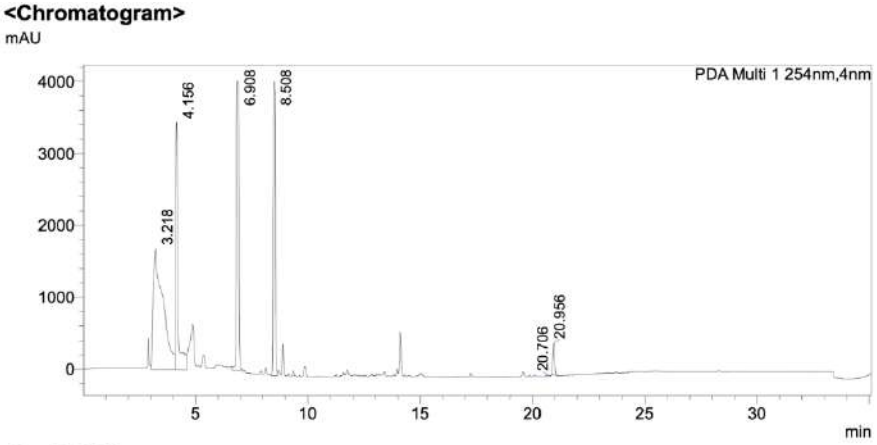


<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	2.498	2104626	1.423	17349	0.119
2	3.219	56241657	38.021	1840508	12.598
3	4.164	24242634	16.389	3605133	24.677
4	4.872	9745038	6.588	960526	6.575
5	6.890	8383725	5.668	1435007	9.823
6	13.983	1741843	1.178	352598	2.414
7	14.122	5453940	3.687	957263	6.552
8	20.709	7424167	5.019	1313156	8.988
9	20.988	30762631	20.796	4089506	27.992
10	24.811	1822521	1.232	38265	0.262
Total		147922782	100.000	14609311	100.000

v. Hari ke-8 replikasi-1



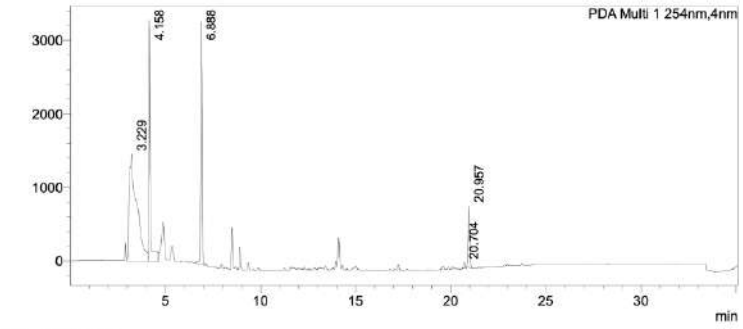
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.218	51139727	37.640	1675361	12.263
2	4.156	24458508	18.002	3426191	25.078
3	6.908	30933261	22.768	4015719	29.393
4	8.508	26723712	19.669	4086874	29.914
5	20.706	107600	0.079	14939	0.109
6	20.956	2502973	1.842	442950	3.242
Total		135865783	100.000	13662034	100.000

w. Hari ke-8 replikasi-2

<Chromatogram>



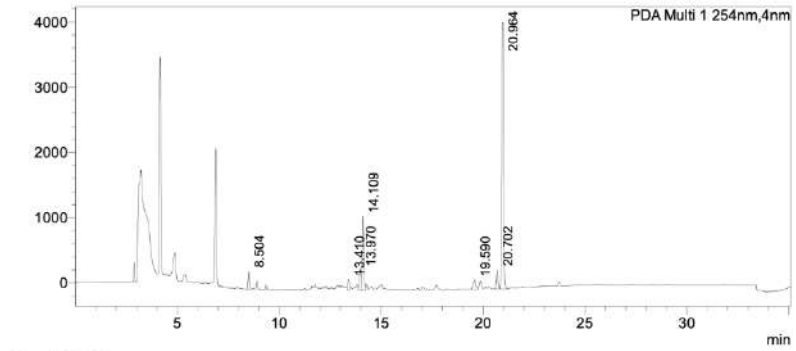
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.229	40986517	50.166	1455607	16.248
2	4.158	19013771	23.272	3278267	36.592
3	6.888	16493055	20.187	3302512	36.863
4	20.704	455698	0.558	82412	0.920
5	20.957	4753097	5.818	840052	9.377
Total		81702137	100.000	8958850	100.000

x. Hari ke-8 replikasi-3

<Chromatogram>



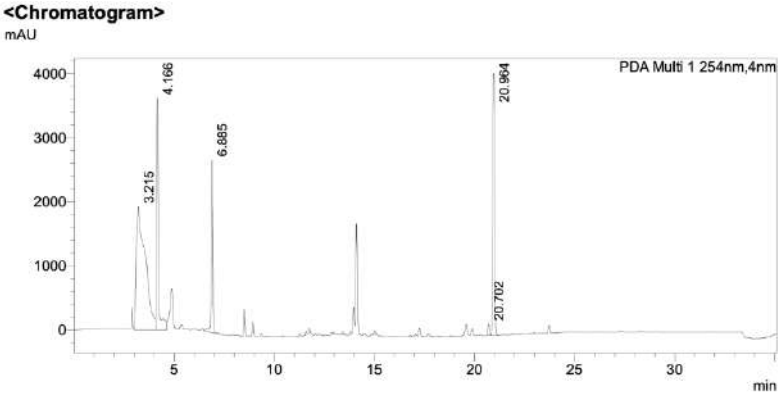
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	8.504	1221279	3.267	279867	4.360
2	13.410	1010533	2.703	166670	2.597
3	13.970	1583056	4.234	315464	4.915
4	14.109	6048832	16.180	1125225	17.531
5	19.590	1280328	3.425	144328	2.249
6	20.702	1776226	4.751	295453	4.603
7	20.964	24465348	65.441	4091637	63.746
Total		37385602	100.000	6418644	100.000

y. Hari ke-9 replikasi-1

<Chromatogram>



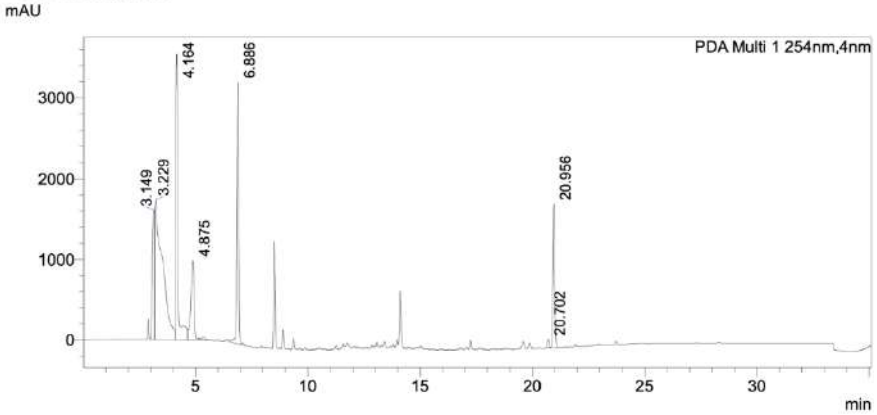
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.215	59075819	48.012	1916832	15.369
2	4.166	25470255	20.700	3613372	28.972
3	6.885	13575011	11.033	2684020	21.520
4	20.702	892832	0.726	170497	1.367
5	20.964	24029306	19.529	4087387	32.772
Total		123043222	100.000	12472108	100.000

z. Hari ke-9 replikasi-2

<Chromatogram>



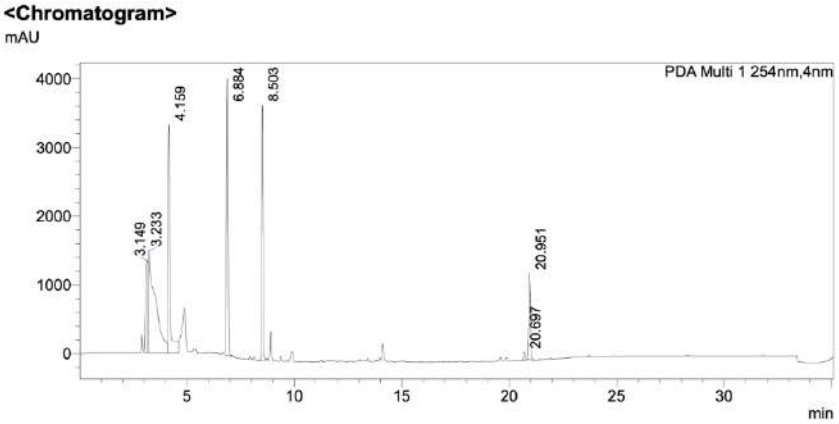
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.149	12198924	10.762	1603640	12.363
2	3.229	40099319	35.377	1734099	13.369
3	4.164	23229588	20.494	3531299	27.224
4	4.875	10371951	9.150	983660	7.583
5	6.886	16804774	14.826	3236718	24.953
6	20.702	549698	0.485	105065	0.810
7	20.956	10094887	8.906	1776750	13.698
Total		113349140	100.000	12971230	100.000

aa. Hari ke-9 replikasi-3

<Chromatogram>



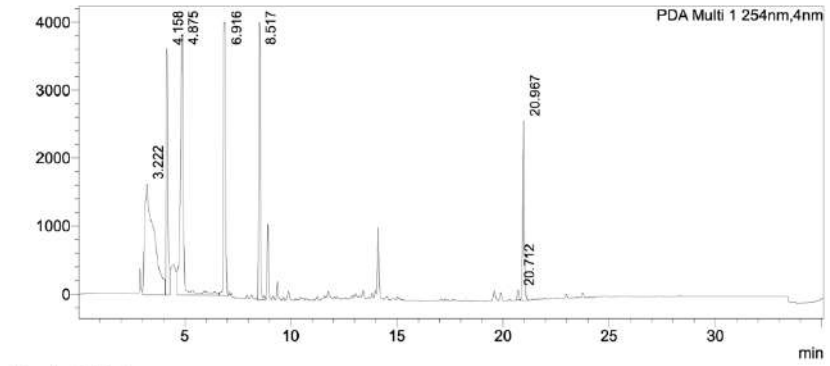
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.149	10162190	8.962	1342283	8.799
2	3.233	33902513	29.897	1484784	9.733
3	4.159	20883358	18.416	3320186	21.765
4	6.884	24620529	21.712	4028065	26.405
5	8.503	16252801	14.333	3716591	24.364
6	20.697	618764	0.546	114540	0.751
7	20.951	6955908	6.134	1248295	8.183
Total		113396062	100.000	15254743	100.000

bb. Hari ke-10 replikasi-1

<Chromatogram>



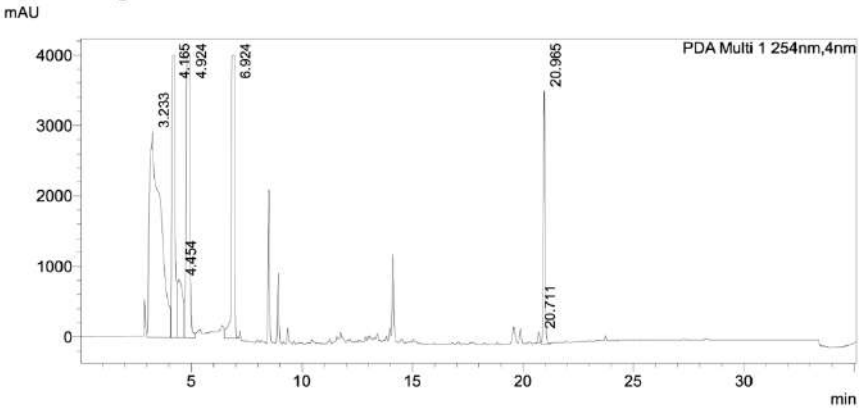
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.222	49850745	28.306	1633041	8.181
2	4.158	22064102	12.528	3614208	18.106
3	4.875	34846850	19.787	3823913	19.157
4	6.916	29864241	16.958	4017807	20.128
5	8.517	24667182	14.007	4081911	20.449
6	20.712	780525	0.443	148044	0.742
7	20.967	14038274	7.971	2642412	13.238
Total		176111918	100.000	19961336	100.000

cc. Hari ke-10 replikasi-2

<Chromatogram>



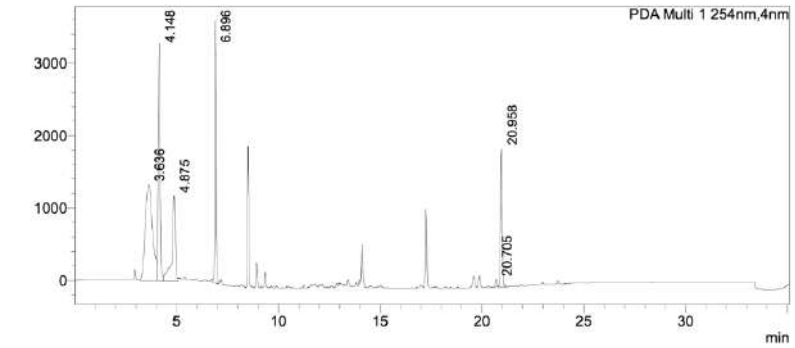
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.233	101669969	38.138	2915043	14.963
2	4.165	44344089	16.634	4008897	20.577
3	4.454	14053358	5.272	822819	4.223
4	4.924	50432195	18.918	4010377	20.585
5	6.924	37934268	14.230	4015108	20.609
6	20.711	793606	0.298	146991	0.754
7	20.965	17354744	6.510	3562867	18.288
Total		266582229	100.000	19482103	100.000

dd. Hari ke-10 replikasi-3

<Chromatogram>



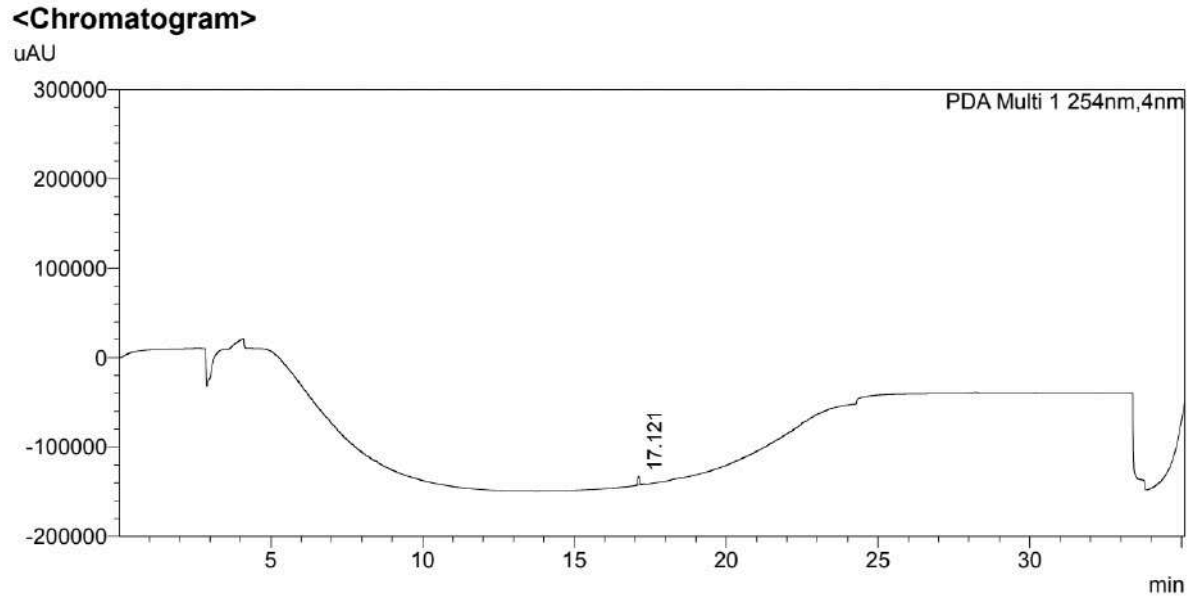
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm

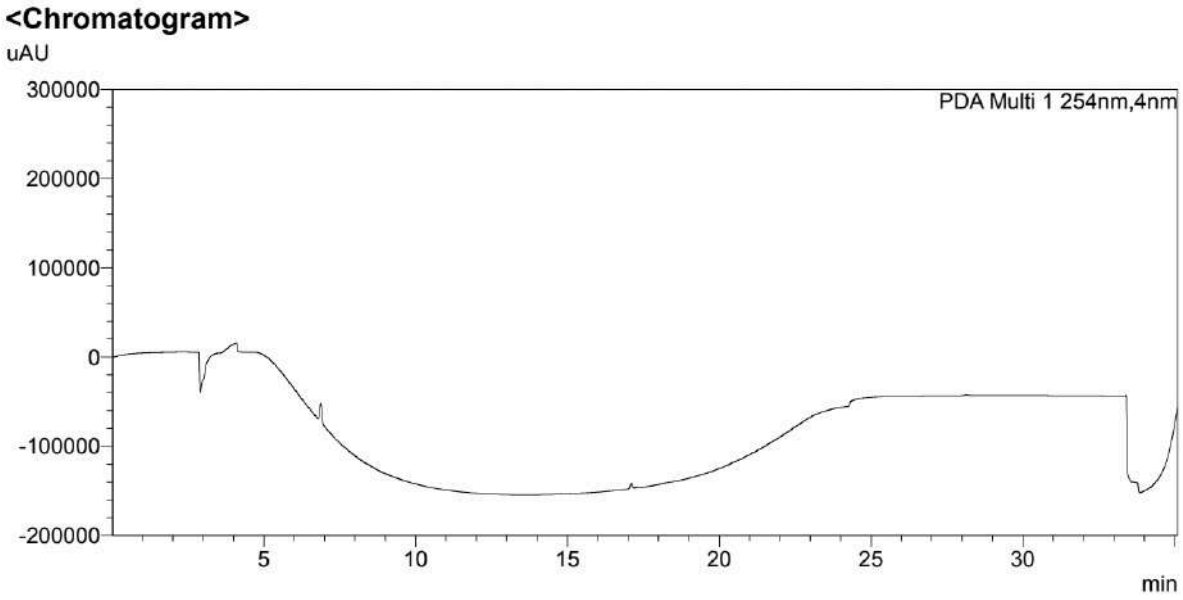
Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Height%
1	3.636	33291219	35.303	1319921	11.591
2	4.148	22427336	23.783	3272058	28.733
3	4.875	12688676	13.455	1166439	10.243
4	6.896	14608316	15.491	3621089	31.798
5	20.705	533420	0.566	99370	0.873
6	20.958	10752743	11.402	1908915	16.763
Total		94301710	100.000	11387791	100.000

Lampiran 9. Kromatogram HPLC analitik sampel isolat gabungan dari ekstrak 5L ke-1 dan ke-2

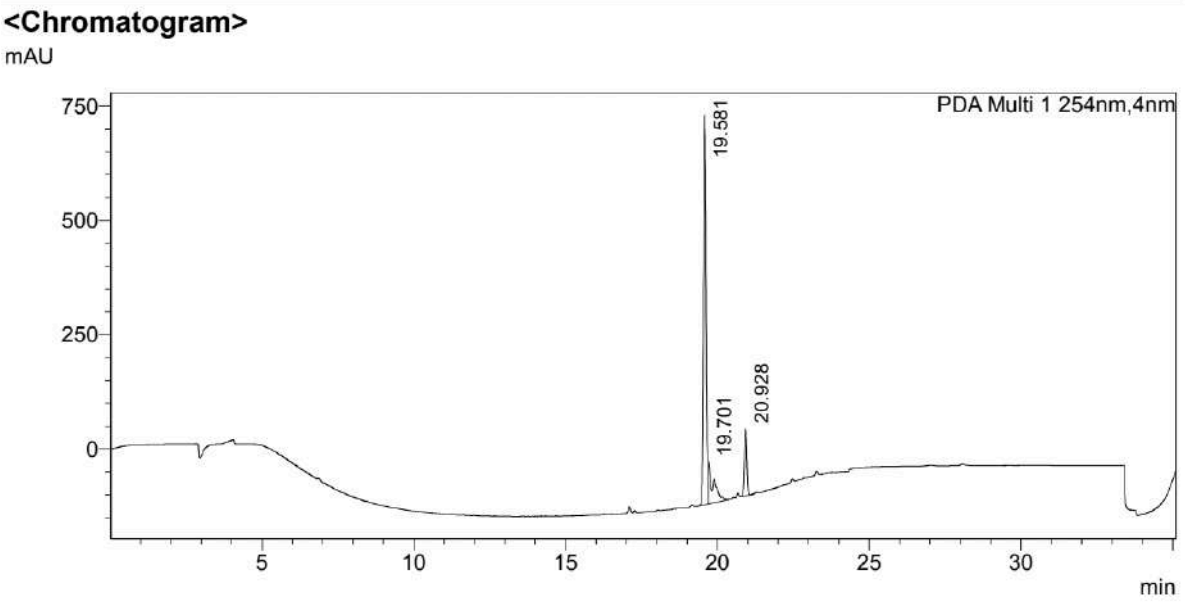
a. Isolat ke-1



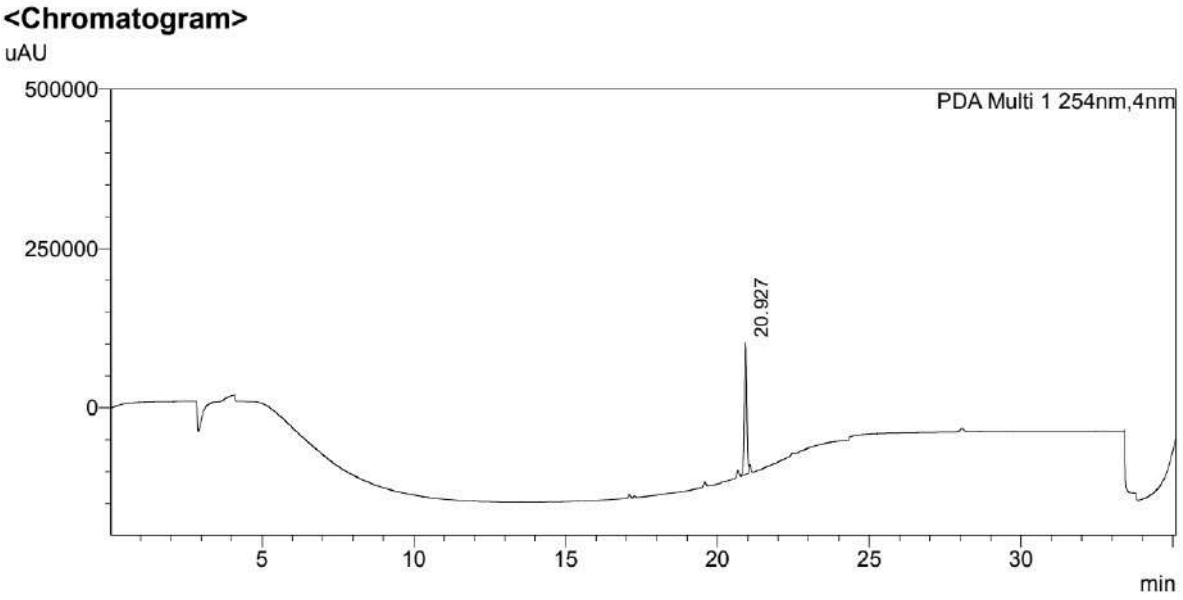
b. Isolat ke-2



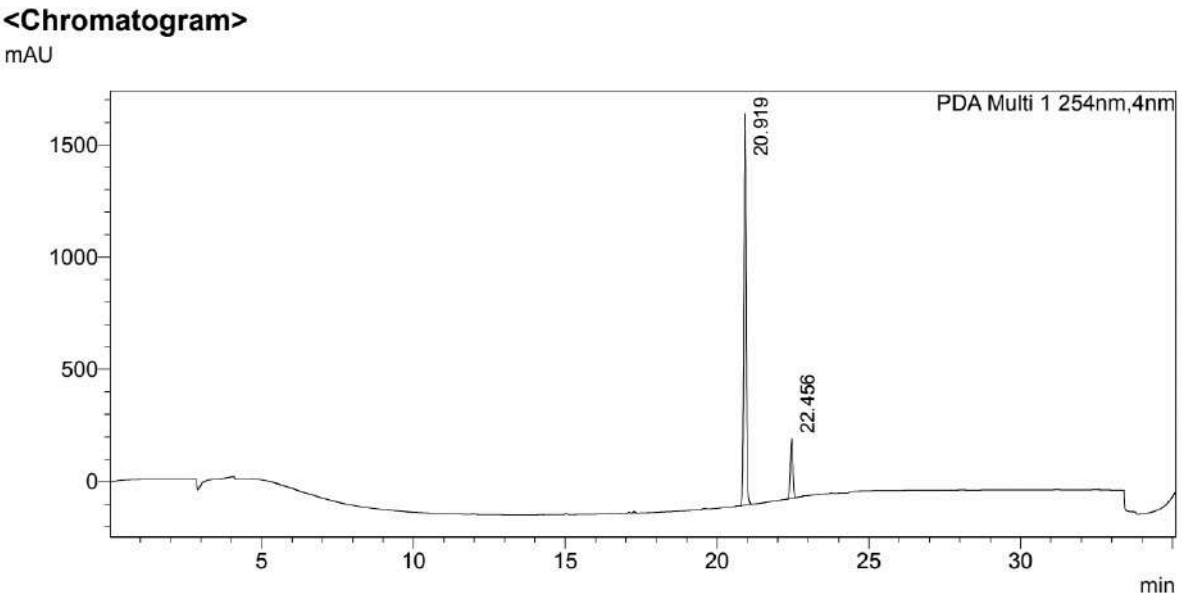
c. Isolat ke-3



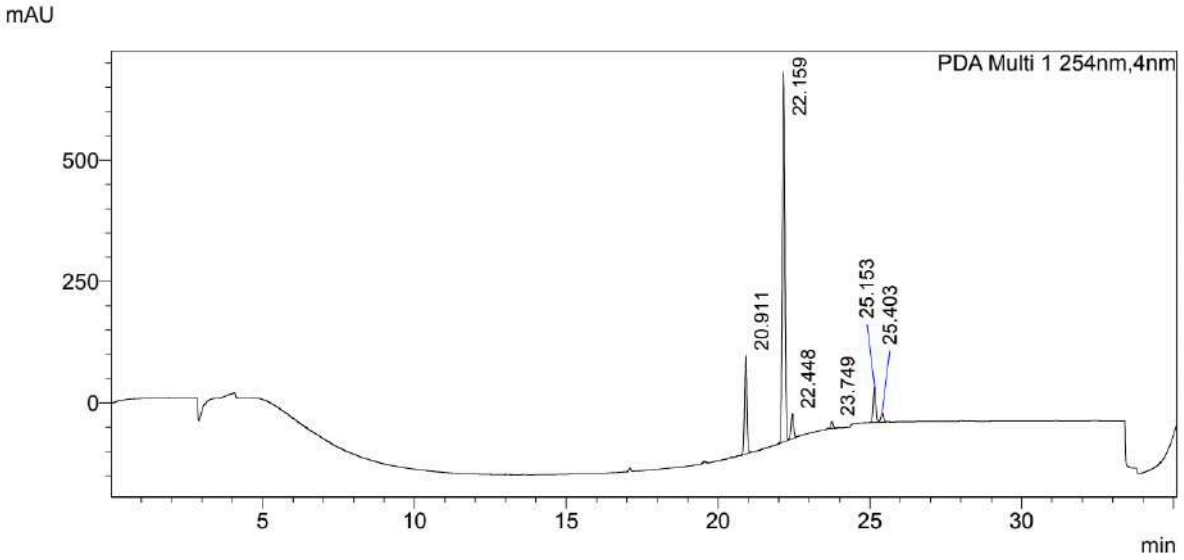
d. Isolat ke-4



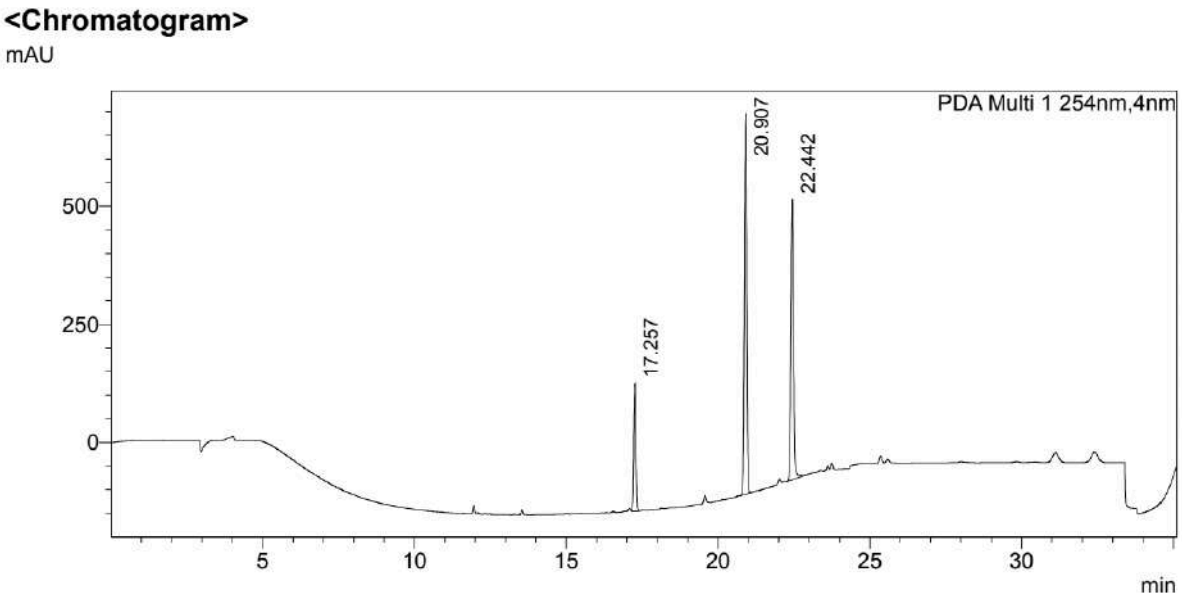
e. Isolat ke-5



f. Isolat ke-6



g. Isolat ke-7



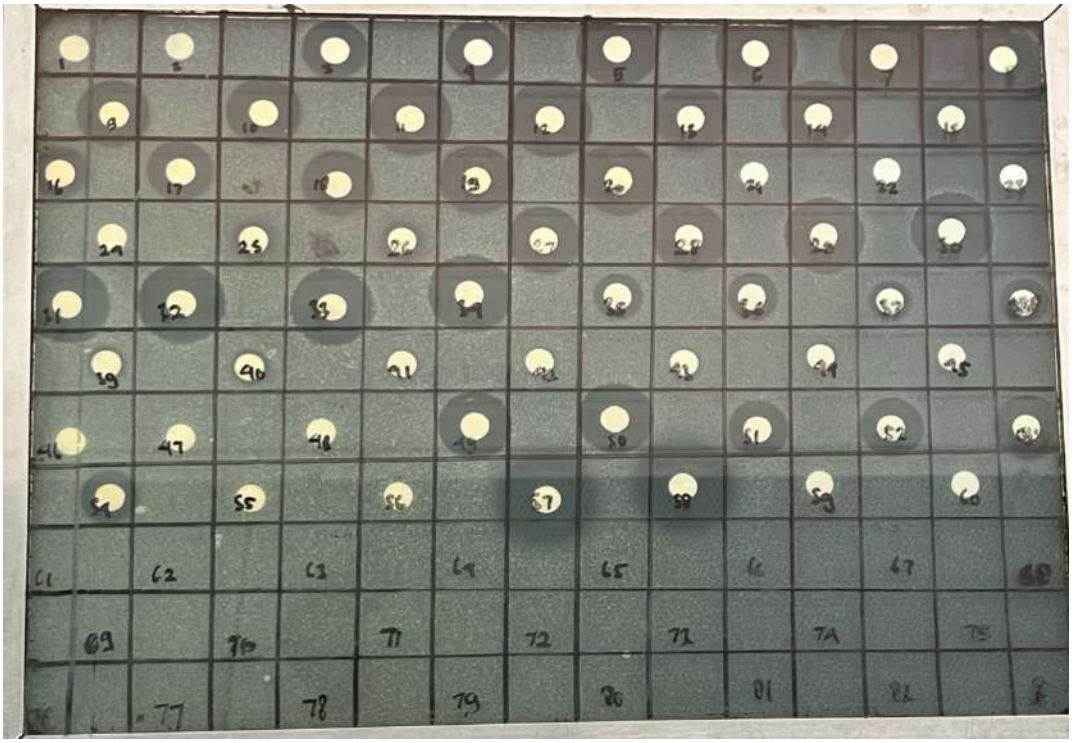
Lampiran 9. Proses pengeringan ekstrak dan fraksi



Lampiran 10. Pengeringan sampel menggunakan konsentrator (Sakuma EC-2000)

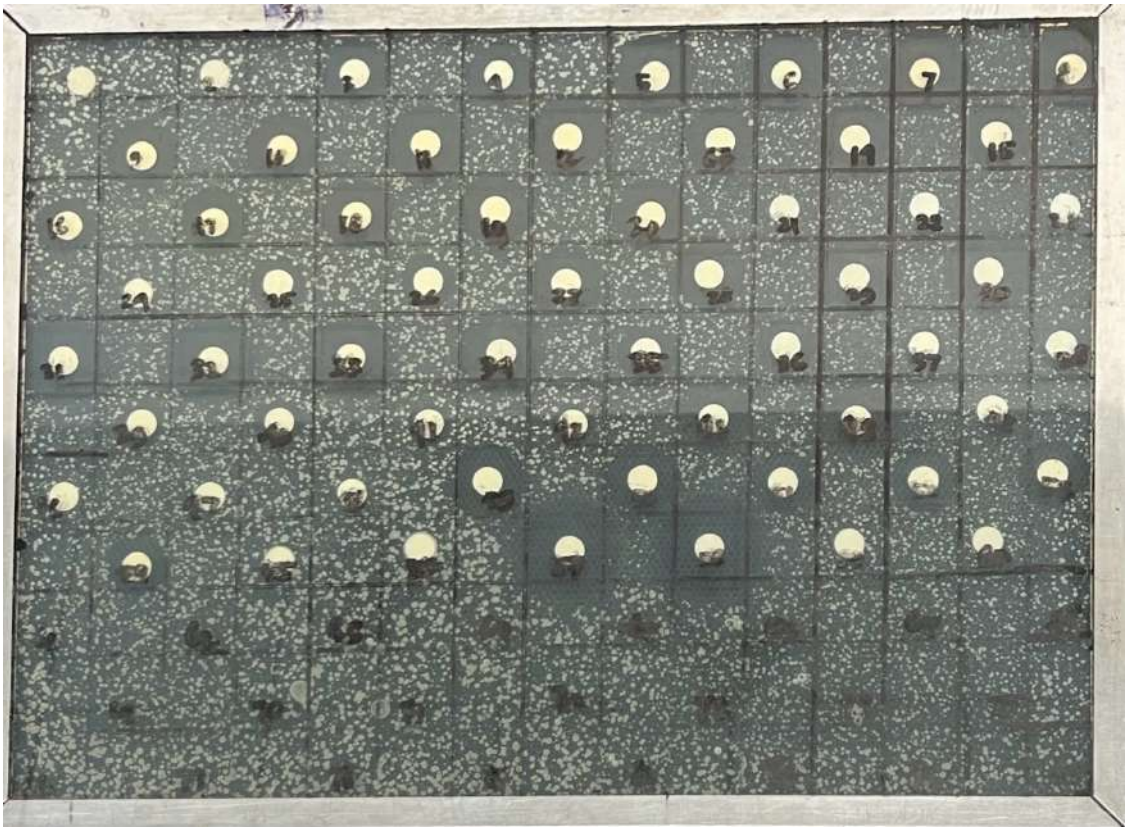


Lampiran 11. Hasil pengujian perkembangan kultur dan fraksi kolom terbuka pada *S. aureus*.



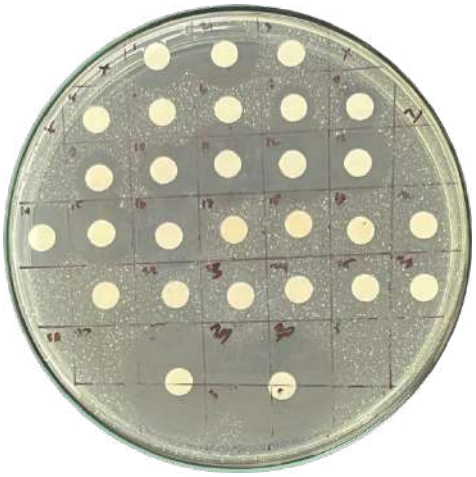
***Keterangan:** paper disk 8 mm, 1-20 Fraksi kolom 5L ke-1, 21-48 frkasi kolom 5L ke-2, 49;50 ekstrak PDB 1L, 51;52 ekstrak PDB 5L ke-1, 53;54 ekstrak PDB 5L ke-2, 55;56 dan 59;60 kontrol negatif, 57;58 kontrol positif.

Lampiran 12. Hasil pengujian perkembangan kultur dan fraksi kolom terbuka pada *B. subtilis*



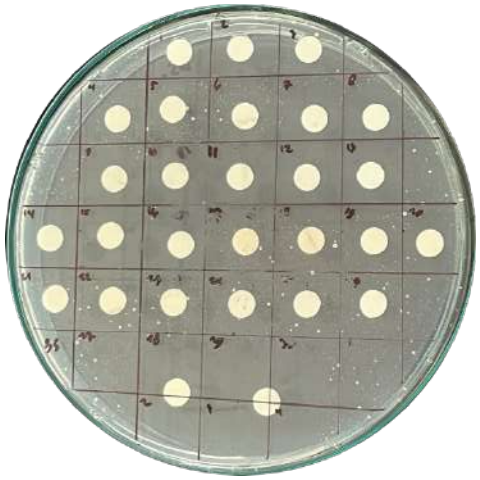
***Keterangan:** paper disk 8 mm, 1-20 Fraksi kolom 5L ke-1, 21-48 frkasi kolom 5L ke-2, 49;50 ekstrak PDB 1L, 51;52 ekstrak PDB 5L ke-1, 53;54 ekstrak PDB 5L ke-2, 55;56 dan 59;60 kontrol negatif, 57;58 kontrol positif.

Lampiran 13. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *S. aureus*



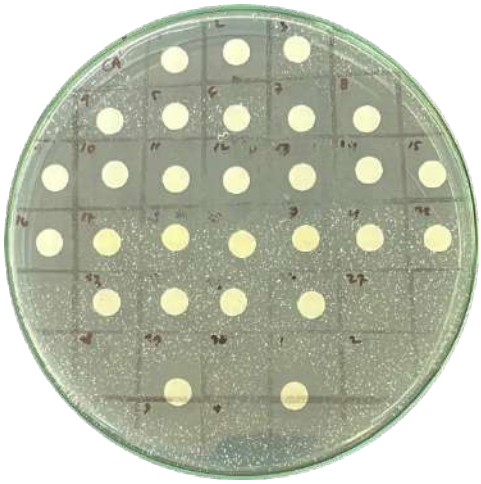
***Keterangan:** paper disk 8 mm, 1&2 tampungan ke-1, 3&4 tampungan ke-2, 5&6 tampungan ke-3, 7&8 tampungan ke-4, 9&10 tampungan ke-5, 11&12 tampungan ke-6, 13&14 tampungan ke-7, 15&16 tampungan ke-8, 17-24 blank sample, 25&26 kontrol negatif, 29&30 kontrol positif

Lampiran 14. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *B. subtilis*



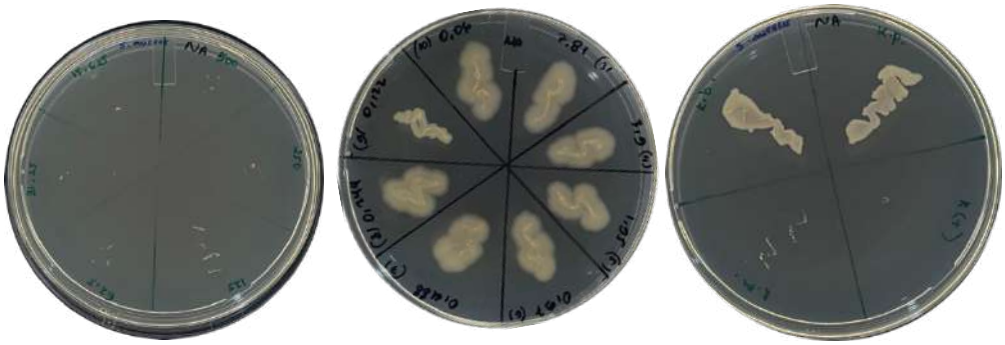
***Keterangan:** paper disk 8 mm, 1&2 tampungan ke-1, 3&4 tampungan ke-2, 5&6 tampungan ke-3, 7&8 tampungan ke-4, 9&10 tampungan ke-5, 11&12 tampungan ke-6, 13&14 tampungan ke-7, 15&16 tampungan ke-8, 17-24 blank sample, 25&26 kontrol negatif, 29&30 kontrol positif

Lampiran 15. Hasil pengujian senyawa isolat dengan kemurnian 86,336% pada *C. albicans*



***Keterangan:** paper disk 8 mm, 1&2 tampungan ke-1, 3&4 tampungan ke-2, 5&6 tampungan ke-3, 7&8 tampungan ke-4, 9&10 tampungan ke-5, 11&12 tampungan ke-6, 13&14 tampungan ke-7, 15&16 tampungan ke-8, 17-24 blank sample, 25&26 kontrol negatif, 29&30 kontrol positif

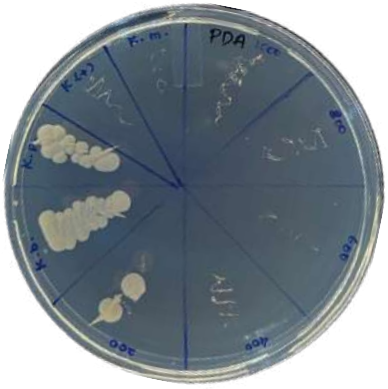
Lampiran 16. Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *S. aureus*



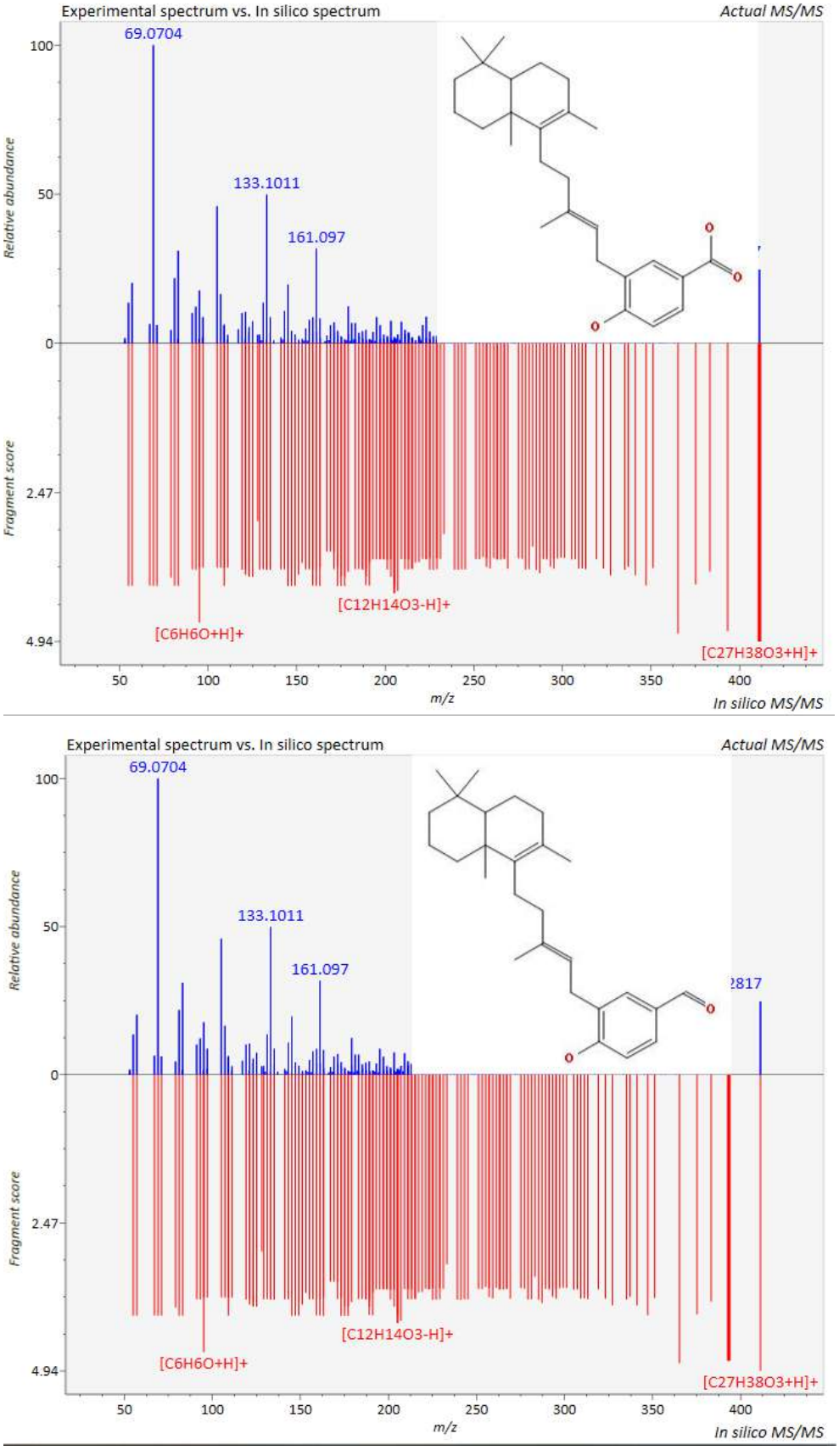
Lampiran 17. Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *B. subtilis*

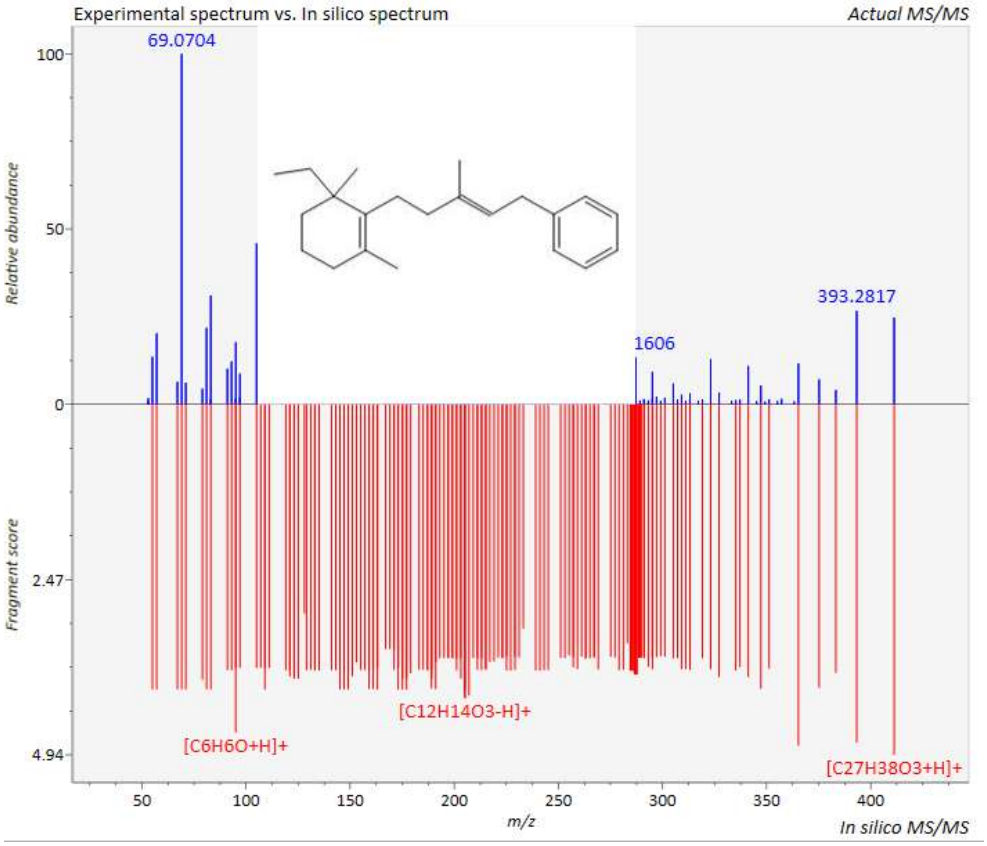


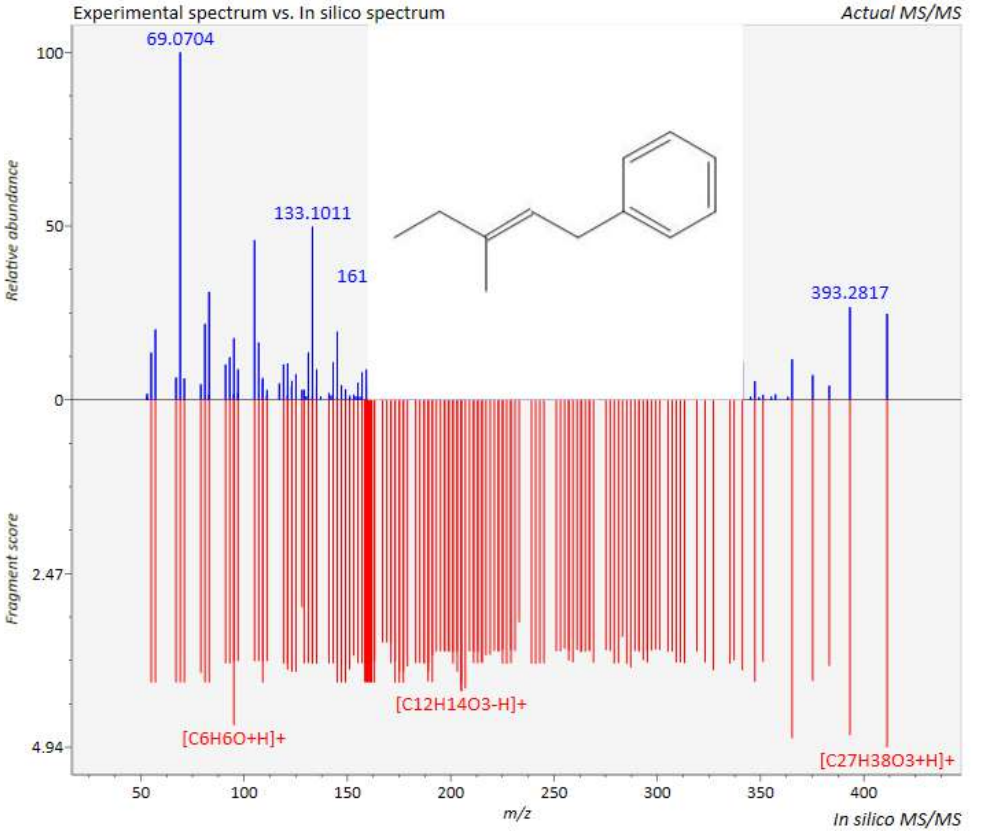
Lampiran 18 Pengujian konfirmasi KHM dan KBM senyawa isolat pada *C. albicans*

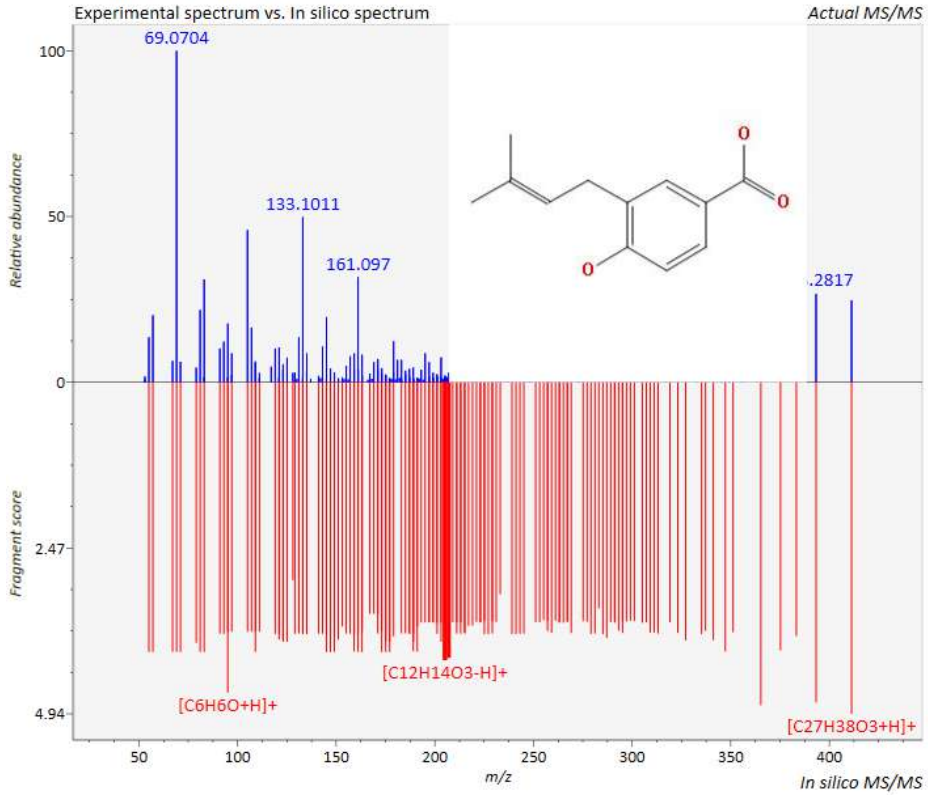


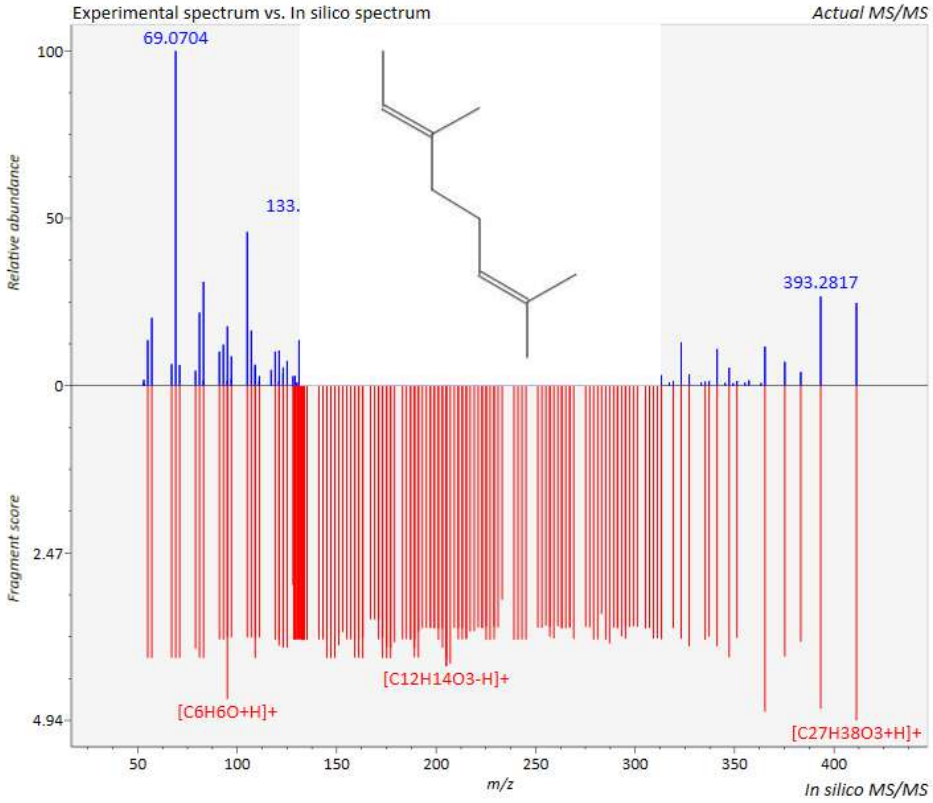
Lampiran 19. Hasil fragmentasi *subersic acid m/z* 411,29 $[M+H]^+$

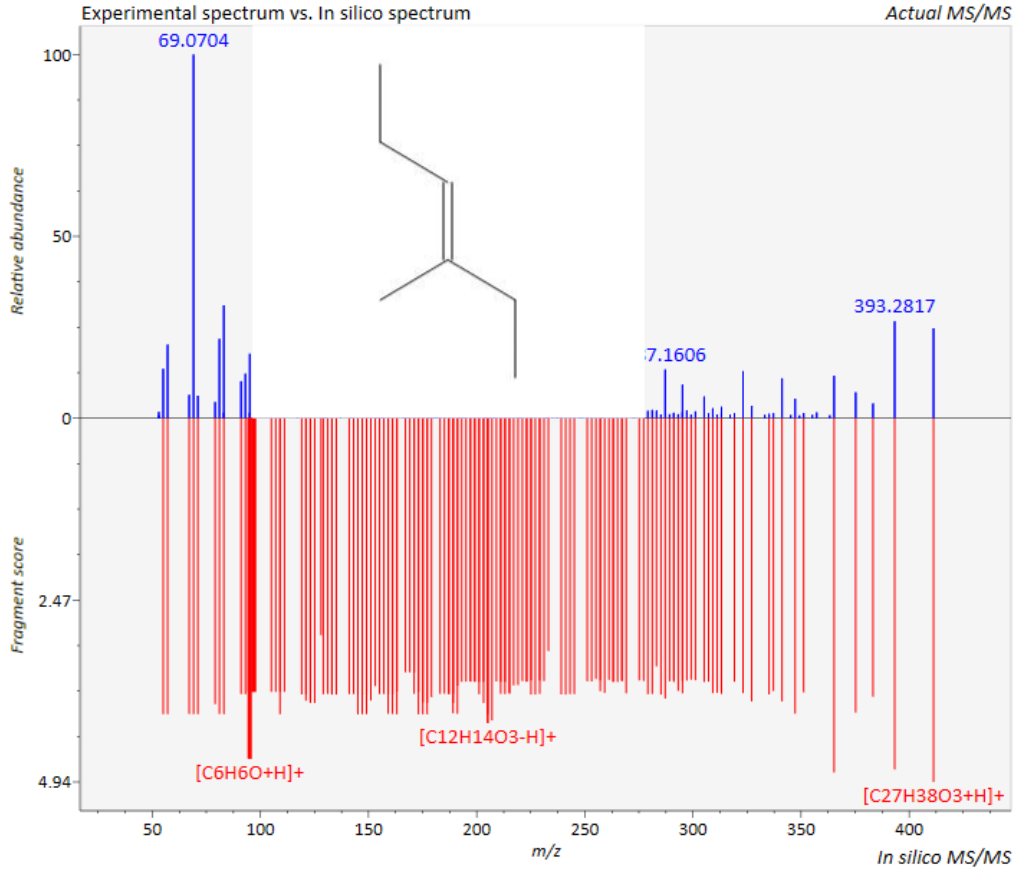


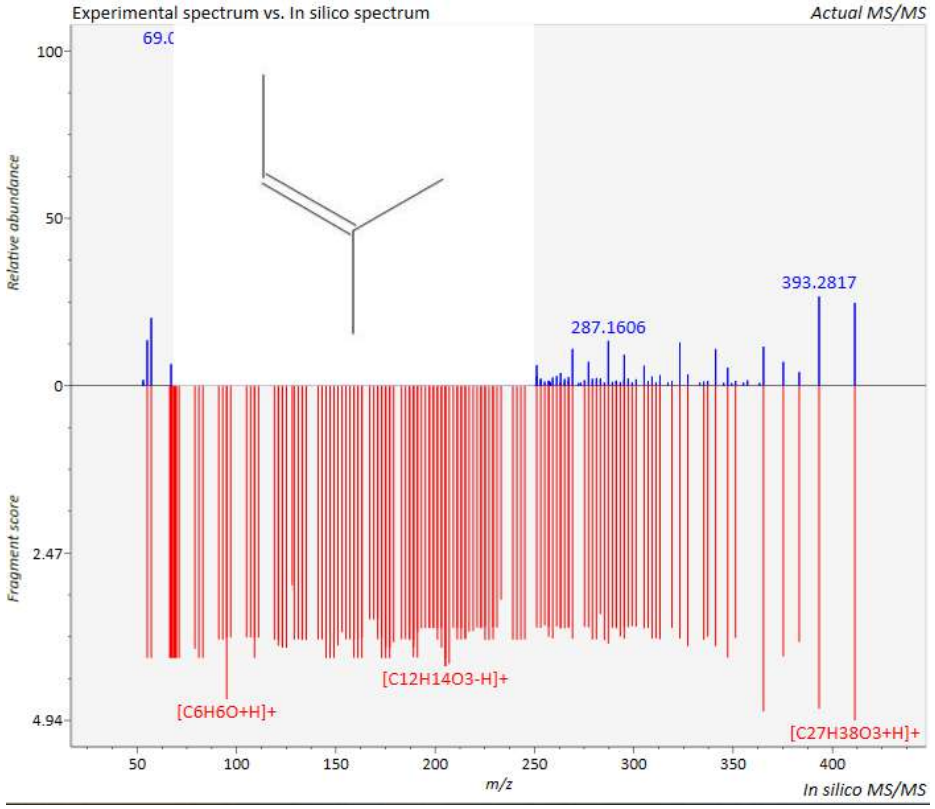

Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0704
393.2817
1606
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS


Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0704
133.1011
161
393.2817
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS


Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0704
133.1011
161.097
.2817
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS


Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0704
133.
393.2817
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS


Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0704
393.2817
7.1606
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS


Experimental spectrum vs. In silico spectrum
Actual MS/MS
69.0
393.2817
287.1606
Relative abundance
Fragment score
[C6H6O+H]+
[C12H14O3-H]+
[C27H38O3+H]+
m/z
In silico MS/MS

Lampiran 20. Glosarium

No	Istilah	Definisi
1	Aktivitas Biologis	Efek fisiologis senyawa terhadap organisme hidup.
2	Antimikroba	Senyawa atau zat yang digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit.
3	*Bacillus subtilis*	Bakteri Gram positif yang sering dijadikan model dalam penelitian mikrobiologi.
4	*Bioassay-Guided Fractionation*	Metode pemisahan senyawa yang dipandu oleh hasil uji aktivitas biologis terhadap target tertentu.
5	*Candida albicans*	Jamur patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia.
6	*Ceratobasidium* sp.	Genus jamur endofit yang memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa antimikroba.
7	Endofit	Mikroorganisme, seperti jamur atau bakteri, yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit pada inangnya.
8	*Escherichia coli*	Bakteri Gram negatif yang sering digunakan dalam penelitian antimikroba.
9	Fermentasi	Proses metabolisme mikroorganisme untuk menghasilkan senyawa bioaktif dalam kondisi terkontrol.
10	Fermentasi Batch	Fermentasi dalam sistem tertutup tanpa penambahan atau pengeluaran substrat selama proses berlangsung.
11	Fermentasi Cair	Proses fermentasi menggunakan media cair seperti PDB.
12	Fermentasi Padat	Proses fermentasi menggunakan substrat padat tanpa air bebas.
13	Filogenetik	Studi hubungan evolusi antar organisme berdasarkan data genetik dan morfologi.

14	Filum *Basidiomycota*	Kelompok jamur yang menghasilkan spora pada struktur berbentuk *basidium*.
15	Fitopatogen	Organisme yang menyebabkan penyakit pada tanaman.
16	*Houttuynia cordata* Thunb.	Tanaman obat yang digunakan secara tradisional di Asia dan dikenal memiliki aktivitas farmakologi, termasuk antimikroba.
17	HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*)	Teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengkuantifikasi senyawa dalam campuran.
18	Inokulasi	Proses menambahkan mikroorganisme ke dalam media kultur.
19	Inokulum	Materi biologi (seperti mikroorganisme) yang digunakan untuk memulai kultur.
20	Jamur *Basidiomycota*	Filum jamur yang termasuk *Ceratobasidium* sp.
21	KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum)	Konsentrasi terendah dari senyawa yang dapat membunuh mikroorganisme.
22	Keanekaragaman Hayati	Variasi organisme hidup di berbagai ekosistem.
23	KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)	Konsentrasi terendah dari senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.
24	Kromatogram	Grafik hasil pemisahan senyawa dalam teknik kromatografi.
25	Kromatografi Kolom	Metode pemisahan komponen dalam campuran dengan menggunakan fase diam dan fase gerak.
26	Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)	Media padat untuk menumbuhkan jamur.
27	Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)	Media cair yang digunakan untuk menumbuhkan jamur dalam proses fermentasi.
28	Metabolit Sekunder	Senyawa organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang bukan merupakan bagian dari metabolisme utama, tetapi memiliki aktivitas biologis penting.

29	Mikroorganisme Patogen	Organisme yang menyebabkan penyakit pada inangnya.
30	Mikrodilusi	Metode pengujian aktivitas antimikroba dengan melakukan pengenceran berjenjang dalam medium cair.
31	Resistensi Antibiotik	Ketahanan bakteri terhadap antibiotik tertentu.
32	Resistensi Antimikroba	Kemampuan mikroorganisme untuk bertahan hidup atau terus berkembang biak meski terpapar senyawa antimikroba.
33	Simbiosis Mutualisme	Interaksi antara dua organisme berbeda yang saling menguntungkan, misalnya antara tanaman dan jamur endofit.
34	Spektrum Massa	Data hasil analisis spektroskopi massa yang menunjukkan distribusi ion berdasarkan massa-muatan.
35	Spektroskopi Massa	Teknik analisis untuk menentukan massa dan struktur senyawa kimia dengan mengukur rasio massa-muatan ion.
36	*Staphylococcus aureus*	Bakteri Gram positif yang sering menyebabkan infeksi pada manusia.
37	*Subersic Acid*	Senyawa putatif yang teridentifikasi dalam penelitian ini dengan potensi aktivitas antimikroba.
38	UHPLC-HRMS	Teknik analisis kimia yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa molekul dan struktur kimianya.
39	Zona Hambat	Area bening di sekitar cakram antibiotik atau senyawa uji yang menunjukkan adanya aktivitas antimikroba.