

ANALISIS AKTIVITAS DARI JAMUR ENDOFIT YANG TERDAPAT DALAM TUMBUHAN BAKAU *Avicennia marina* DI TASIK RIA MINAHASA

(*Activity Analysis of Endophytes derived from Mangrove Avicennia marina Growing at Tasik Ria Minahasa*)

Jimmy Posangi¹; Robert A. Bara^{2*}

1. Bagian Farmakologi dan Terapi, FK-Unsrat

2. PS. Ilmu Kelautan, FPIK-Unsrat

* Email :Robert.bara@unsrat.ac.id; robertbara@yahoo.com

Endophytes can be interpreted as microbes that live in colonies in the internal tissues of plants without causing adverse effects directly on the plant. Endophytic organisms have a huge potential to be exploited as a new natural products that are useful in medicine, agriculture, and industry. On the other hand the need for new drugs that help humanity against various diseases has never end, it is due to the resistance of bacteria, viruses, pathogenic fungal infections, various types of tumors, parasites and protozoa infections in today's world population as a result of our inability to cope all these health problems. Indonesia that located in tropical area has the highest biodiversity, on the other hand, the resistance of endophytic in tropical ecosystems against pathogens and predators quite large, limited resources and very high pressures of natural selection. This raise the chances are that the endophytes in our country could have potential source of new structures with interesting biological activities to be developed as a new drug. This research is focused on the antibacterial potential. Mangrove *Avicennia marina* taken from Tasik Ria Beach. Endophytic fungi isolated until 2 isolates obtained pure strain of *Aspergillus* sp. and *Acremonium* sp. Both isolates were then tested its activity against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using co-cultivation methods. *Acremonium* sp. has a higher antibacterial activity compared with the fungus *Aspergillus* sp. against *S. aureus*, whereas *Aspergillus* sp. showed antibacterial activity against *E. coli*.

Keywords: Endophyte, *Avicennia marina*, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., co-cultivation

Endofit dapat diartikan sebagai mikroba yang hidup berkoloni dalam jaringan internal tumbuhan tanpa menyebabkan efek yang merugikan secara langsung pada tumbuhan tersebut. Organisme endofitik memiliki potensi yang sangat besar untuk dieksploitasi dan menghasilkan produk alami baru yang bermanfaat di bidang kedokteran, pertanian, dan industri. Pada sisi yang lain kebutuhan terhadap obat-obatan baru yang membantu umat manusia melawan pelbagai penyakit tidak pernah berhenti, hal ini disebabkan adanya resistensi bakteri, infeksi virus, insidensi infeksi jamur, berbagai jenis tumor, infeksi parasit dan protozoa, di dalam populasi dunia sekarang ini sebagai akibat ketidakmampuan kita untuk mengatasi tidak hanya problematika kesehatan. Indonesia sebagai daerah tropis dengan keanekaragaman hayati yang cukup besar, di lain pihak, perlawanan endofit di ekosistem daerah tropis melawan organisme patogen dan predator cukup besar, sumber daya yang terbatas dan tekanan seleksi alam sangat tinggi. Hal ini menimbulkan kemungkinan besar bahwa endofit di daerah tropis seperti di negara kita merupakan sumber struktur senyawa baru dengan aktivitas biologis yang menarik untuk dikembangkan sebagai bahan obat baru. Penelitian ini merupakan penelitian untuk mencari kandidat obat-obatan baru yang difokuskan pada kandidat bahan obat yang memiliki potensi antibakteri dan antikanker. Tumbuhan bakau *Avicennia marina* diambil dari Pantai Tasik Ria. Jamur endofit diisolasi hingga diperoleh 2 isolat galur murni *Aspergillus* sp. dan *Acremonium* sp. Kedua isolat kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode ko-kultivasi. *Acremonium* sp. memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan jamur *Aspergillus* sp. terhadap bakteri *S. aureus*, sedangkan *Aspergillus* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri *E. coli*.

Kata kunci: Endofit, *Avicennia marina*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., ko-kultivasi.

Pendahuluan

Organisme endofitik memiliki potensi yang sangat besar untuk dieksploitasi dan menghasilkan produk alami baru yang bermanfaat di bidang kedokteran, pertanian, dan industri. Sebagai gambaran, terdapat sekitar 300 ribu spesies tumbuhan tingkat tinggi di alam yang tersebar di bumi kita, masing-masing individu tumbuhan tersebut merupakan inang dari satu atau lebih mikroba endofit (Strobel *et al.* 2004). Saat ini saja, beberapa produk bioaktif baru diisolasi dan diidentifikasi, senyawa-senyawa ini bukan hanya memiliki struktur dasar yang unik dan tetapi juga aktivitas biologis kuat (Debbab *et al.* 2009; Aly 2010; Proksch *et al.* 2010; Aly *et al.* 2011; Aly *et al.* 2011; Debbab *et al.* 2011; Debbab *et al.* 2012; Debbab *et al.* 2012; Ebrahim *et al.* 2012; Bara *et al.* 2013; Bara *et al.* 2013; Bara *et al.* 2013)

Keanekaragaman hayati di dalam suatu biosfer menggambarkan keragaman kandungan bahan kimia di dalamnya. Endofit yang hidup dalam tumbuhan memiliki fungsi untuk mempertahankan eksistensi dari tumbuhan inang untuk dapat bertahan hidup dan mempertahankan diri dari organisme patogen dan predator utama mereka. Hal ini membuat organisme endofit berevolusi secara konstan untuk menghasilkan senyawa-senyawa kimia baru untuk melindungi inang mereka. Daerah tropis adalah contoh luar biasa dari jenis lingkungan ini. Dalam ekosistem yang terdapat di daerah ini, perlawanan endofit melawan organisme patogen dan predator cukup besar, sumber daya yang terbatas dan tekanan seleksi alam sangat tinggi (Strobel *et al.* 2004). Hal ini menimbulkan kemungkinan besar bahwa endophytes di daerah tropis seperti di negara kita merupakan sumber struktur senyawa baru dengan aktivitas biologis yang menarik.

Lingkungan laut merupakan sumber yang besar dari produk alam yang memiliki struktur yang unik yang umumnya terkonsentrasi pada sponge, tunikata,

bryozoa, dan moluska yang merupakan organisme yang hidup dalam kolom air. Sejumlah besar dari senyawa-senyawa ini menunjukkan aktivitas farmakologi yang kuat dan merupakan kandidat yang menarik untuk bahan obat-obatan baru terutama pada area penelitian antikanker dan antimikroba. Senyawa-senyawa lainnya telah dikembangkan sebagai kandidat obat analgesik (sebagai contoh ziconotid yang diperoleh dari moluska spesies *Conus magus*) atau untuk mengobati inflamasi. Sejumlah produk alami yang diperoleh dari organisme bahari ini menunjukkan kesamaan struktur kimia yang langsung dengan metabolit yang diproduksi oleh mikroba. Yang memungkinkan mikroorganisme ini (endosimbion berupa jamur, bakteri dan alga mikro) setidaknya terlibat dalam proses biosintesis senyawa-senyawa yang diproduksi oleh organisme laut ini atau merupakan sumber sebenarnya dari senyawa tersebut. Hal ini tidak hanya berlaku dalam lingkungan bawah laut itu sendiri tetapi juga lingkungan yang berbatasan dengan laut termasuk di dalamnya ekosistem mangrove. Indonesia sebagai negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki peluang yang cukup besar untuk penemuan bahan kandidat obat. Di lain pihak, penelitian tentang fungi endofitik terutama yang berasal dari mangrove sebagai penghasil senyawa bahan alami di Indonesia masih sangatlah terbatas.

Avicennia marina (Forsk.) Vierh. Umumnya dikenal sebagai tumbuhan bakau putih atau abu-abu. Belakangan, tumbuhan ini diklasifikasikan kembali sebagai genus tersendiri dari sub-famili Avicenniodeae dalam famili Acanthaceae (Duke 1991). Mangrove ini terdistribusi mulai dari daerah tropis sampai dengan daerah subtropis. Di perairan Sulawesi Utara sendiri, mangrove ini mendominasi daerah pasang surut di sepanjang garis pantai. Daun dan kulit dari *A. marina* digunakan oleh penduduk lokal Pulau Mantehage untuk mengobati diare dan abses (Madjowa *et al.* 2000). Penelitian sebelumnya dari tumbuhan yang berasal

dari genus yang sama menunjukkan adanya senyawa derivat naftoquinon (Ito *et al.* 2000), glikosida iridoid (Koenig and Rimpler 1985), diterpenoid (Li *et al.* 2008) dan flavonoid (Feng *et al.* 2006). Sedangkan penelitian potensi endofit untuk dapat dikembangkan sebagai produsen kandidat obat baru yang terdapat dari genus yang sama masih belum dikembangkan secara mendalam.

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh penulis terhadap jamur endofitik *Botryosphaeria australis* yang diisolasi dari mangrove *Avicennia marina* yang berasal dari Profinsi Hainan, Republik Rakyat China diperoleh senyawa baru Botryosphaenin dari kelas senyawa naftoquinon, bersama-sama dengan 5 senyawa yang telah dikenal botriosterpen, 5-hidroksi 2,7-dimetoksinaftalen-1,4-dion dan derivatnya, 6-etil-5-hidroksi-2,7-dimetoksinaftalen-1,4-dion, O-metilaspenon, O-metilasparienon and 5-(karboksimetil)-7-hidroksi-1,4a-dimetil-6-metilendekahidronaftalen-1-asam karbosiklat. Senyawa baru yang diisolasi menunjukkan bioaktivitas terhadap bakteri pathogen *Staphylococcus aureus* resisten, beberapa spesies *Streptococcus* dan *Bacillus subtilis* dan juga menunjukkan aktivitas terhadap sel eukariot THP-1 (human leukemia monocyte) and BALB/3T3 (mouse embryonic fibroblast).

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari mangrove *Avicennia marina* yang tumbuh di Perairan Manado (*ex-situ*). Secara umum, jamur endofit dikultur dalam media kaya karbohidrat, selanjutnya ditumbuhkan bersama dengan bakteri uji untuk melihat potensi antibakteri dari isolat tersebut.

Metode Penelitian

Tumbuhan bakau jenis *Avicennia marina* di ambil dari perairan Pantai Tasik Ria. Jamur endofit diisolasi dari dalam jaringan dalam dari tumbuhan dengan cara sebagai berikut. Potongan akar dari tumbuhan direndam dalam etanol 70% selama 30 detik untuk

menghindari kontaminasi silang jamur epifit dan di potong dengan metode septik-aseptik. Potongan ini selanjutnya diletakkan di atas permukaan malt agar di cawan petri. Kloramfenikol 0.2 g/L sebelumnya di tambahkan ke dalam media malt Potato Dextrose Agar (PDA) untuk mencegah kontaminasi silang bakteri. Kontrol negatif di pakai untuk melihat pertumbuhan jamur epifit yang terdapat di permukaan tumbuhan. Jamur mulai tumbuh dari potongan setelah 3-7 hari. Selanjutnya dilakukan pemurnian endofit yang bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan mengamati perbedaan morfologi. Purifikasi jamur dilakukan dengan cara menusuk miselia jamur yang tumbuh pada bagian terjauh dengan menggunakan kawat ose steril, selanjutnya bagian dari jamur tersebut dipindahkan kembali ke media PDA steril. Hal yang sama juga dilakukan pada miselia dengan morfologi yang berbeda.

Uji antibakteri dari jamur endofit dilakukan dengan metode Kirby-Bauer (Boyd 1995; Koneman *et al.* 1992, Lay 1994) yang dimodifikasi oleh (Nainggolan 2000). Pengujian aktivitas ini dilakukan dengan menanam potongan agar dari miselium isolat jamur pada cawan petri yang berisi media kombinasi yang merupakan paduan antara media PDA dan NA dengan jarak yang sama. Sebelumnya bakteri uji digores pada permukaan media. Hal ini dilakukan dengan menumbuhkan bersama bakteri uji dan isolat jamur endofit dengan bakteri uji pada media kombinasi. Langkah ini dikenal dengan istilah ko-kultivasi. Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dilarutkan sebanyak 2mg/ml. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 1 X 24 jam. Pengukuran zona hambat dilakukan mengukur diameter daerah jernih yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Miselial jamur yang telah tumbuh pada media PDA kemudian secara bertahap dimurnikan satu-persatu selanjutnya dipindahkan ke media tersebut di atas pada cawan petri lainnya. Pemurnian ini

dilakukan dengan melihat perbedaan karakteristik morfologi miselia dari tiap jamur yang diisolasi.

Dari tahapan pemurnian jamur endofit akar bakau *A. marina* diperoleh dua jenis isolat jamur dengan karakteristik miselium berwarna hitam, pengamatan lanjut dari jamur ini disimpulkan merupakan jenis jamur yang menyerupai-*Aspergillus* (*Aspergillus-like fungus*) selanjutnya disebut sebagai *Aspergillus* sp., sedangkan isolat jamur berikutnya memiliki karakteristik warna miselium putih, pada pengamatan

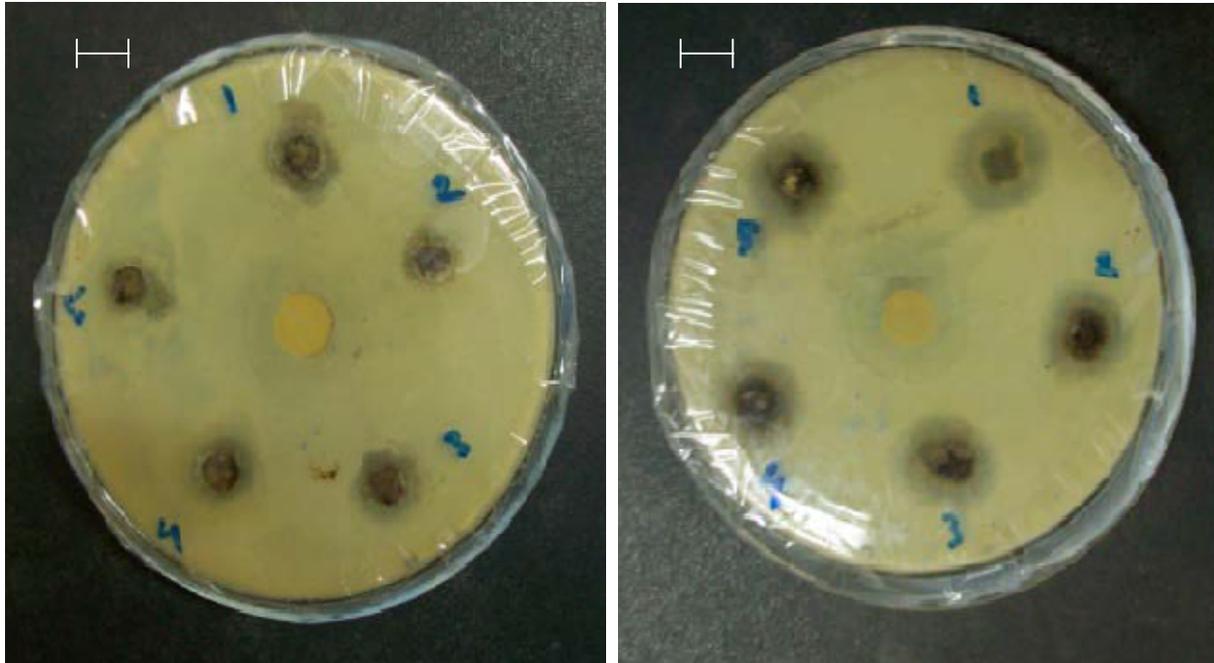
lanjut dari jamur ini disimpulkan merupakan jenis jamur yang menyerupai-*Acremonium* (*Acremonium-like fungus*) yang selanjutnya disebut sebagai *Acremonium* sp., kedua jamur kemudian dikultur kembali pada media PDA. Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Noverita *et al.* 2009), jamur yang diisolasi dari daun lebih banyak dari pada yang diisolasi dari rimpang atau akar tumbuhan. Hal ini diduga karena lebih mudah mendapatkan nutrisi dari daun dibandingkan dari rimpang. Jamur endofit yang diisolasi dari akar bakau *A. marina* dapat dilihat pada Gambar 1.



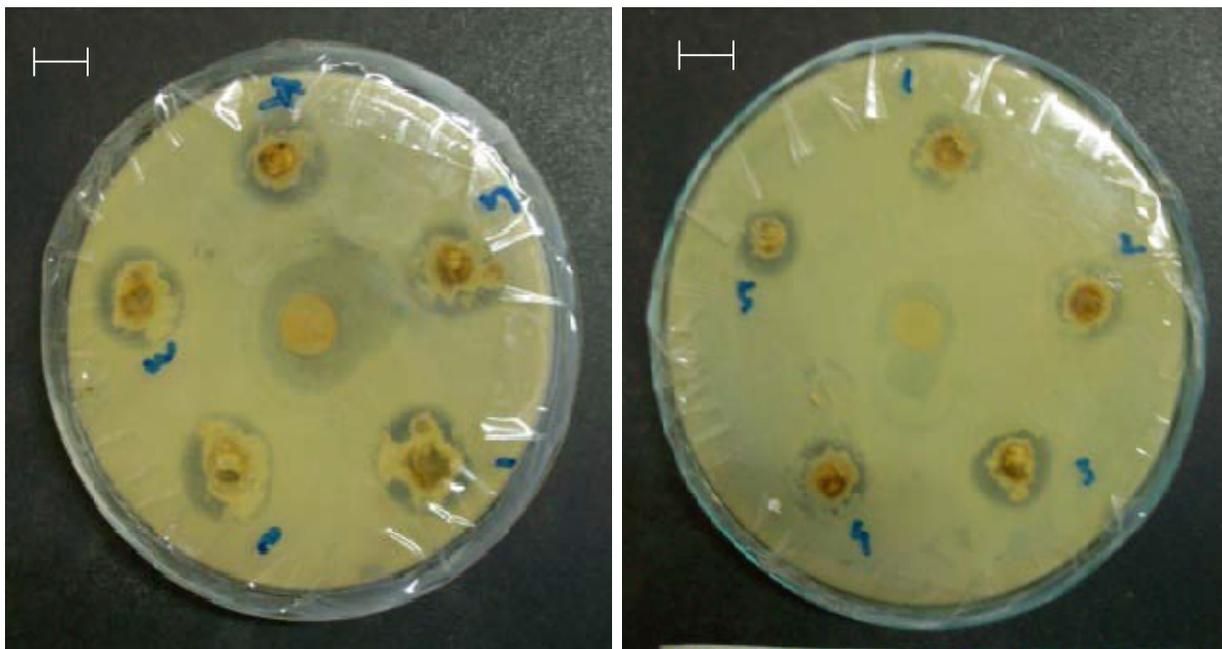
Gambar 1. Isolat jamur endofit dari akar bakau *Avicennia marina*, *Aspergillus* sp. (kiri), dan *Acremonium* sp. (kanan).

Setelah diperoleh isolat yang murni, langkah selanjutnya yang dilakukan yaitu melakukan skrining ada tidaknya aktivitas antibakteri pada kedua isolat jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan *A. marina*. Hal ini dilakukan dengan menumbuhkan bersama bakteri uji dan isolat jamur endofit dengan bakteri uji pada media kombinasi. Langkah ini dikenal dengan istilah ko-

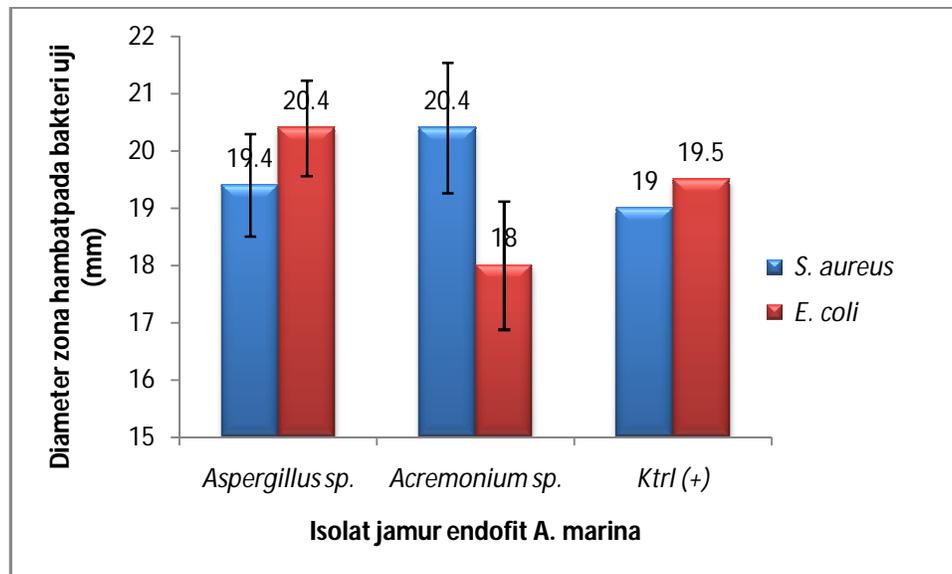
kultivasi. Gambar 2 dan 3 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri kedua isolat jamur endofit yang diisolasi dari akar bakau *A. marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sedangkan Gambar 4 merupakan rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh kedua jamur endofit terhadap bakteri uji tersebut di atas.



Gambar 2. Zona hambat jamur *Aspergillus* sp. terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* (kiri) dan *Escherichia coli* (kanan). Skala 10 mm



Gambar 3. Zona hambat jamur *Acremonium* sp. terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* (kiri) dan *Escherichia coli* (kanan). Skala 10 mm.



Gambar 4. Grafik rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh kedua jamur endofit terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Pada pengukuran diameter zona hambat (Gambar 4) didapatkan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* yang bersifat Gram positif pada jamur *Acremonium sp.* lebih tinggi bila dibandingkan dengan jamur *Aspergillus sp.* hal ini diduga oleh beberapa hal antara lain konsentrasi tumbuh pada kedua jamur yang berbeda di mana pada pertumbuhan sel *Acremonium sp.* lebih signifikan dibandingkan dengan jamur *Aspergillus sp.* dugaan lainnya konsentrasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh kedua isolat yang berbeda, atau dapat pula diakibatkan oleh perbedaan jenis senyawa yang dihasilkan. Di sisi yang lain, jamur *Aspergillus sp.* menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri uji *E. coli* jika dibandingkan dengan isolat *Acremonium sp.* hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa antibakteri dari isolat *Aspergillus sp.* lebih bersifat spesifik ke Gram negatif dibandingkan dengan isolat *Acremonium sp.* hal ini sangat menguntungkan untuk diteliti lebih lanjut mengenai kandungan senyawa aktif yang dihasilkan oleh isolat *Aspergillus sp.* sehingga diperoleh senyawa yang murni.

Sejauh ini pengendalian infeksi Gram negatif sering kali menjadi kendala dalam dunia kedokteran modern, hal ini diakibatkan oleh karakteristik bakteri kelompok Gram negatif yang memiliki dinding peptidoglikan yang cukup padat dan kompak sehingga menghambat proses internalisasi senyawa obat untuk mampu mempengaruhi mekanisme selular dari bakteri. Di samping adanya “*efflux-pump mechanism*”, suatu mekanisme untuk mengeluarkan senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan dalam proses-proses biotransformasi selular bakteri melalui sistem sekresi mereka (Poole 2007).

Kontrol positif siprofloksasin memiliki mekanisme aksi menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme menghambat terbentuknya enzim DNA girase atau lebih dikenal dengan enzim topoisomerase DNA yang dibutuhkan bakteri pada proses replikasi, transkripsi, perbaikan DNA yang rusak dan juga proses rekombinasi DNA bakteri.

Adanya senyawa-senyawa antibakteri dari kedua isolat juga diperkuat dengan ditemukannya senyawa cytocidal,

chlovalicin, isocoumarins, dan senyawa taxol yang berfungsi sebagai antibiotik, anti inflamasi, anti alergi dan anti kanker. Senyawa cytocidal dan chlovalicin di temukan dalam jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau *Kandelia candel*. Senyawa isocoumarins di temukan dalam jamur endofit yang diisolasi dari daun muda tumbuhan bakau *Avicennia marina* yang ditemukan di Pearl River Estuary, Tiongkok Selatan (Huang *et al.* 2007). Senyawa turunan indol dan diketopiperazin yang memiliki aktivitas antibakteri dihasilkan oleh jamur *Penicillium chrysogenum*, endofit dari bakau *Porteresia coarctata* (Roxb.) (Devi *et al.* 2012). Penulis juga menemukan senyawa baru dengan sifat antibakteri yang kuat yang diisolasi dari jamur endofit *Botryosphaeria australis* dari tumbuhan bakau *A. marina* yang tumbuh di Provinsi Hainan, Tiongkok (Bara *et al.* 2013). Senyawa-senyawa yang dihasilkan jamur endofit yang hidup secara ko-eksisten dengan tumbuhan bakau kemungkinan merupakan mekanisme perlindungan diri terhadap mikroorganisme patogen seperti bakteri dan proses predasi terhadap tumbuhan tersebut. Senyawa yang dihasilkan untuk mekanisme perlindungan diri ini lah yang bisa dimanfaatkan oleh manusia sebagai kandidat obat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Diperoleh dua isolat jamur endofit yang diisolasi dari akar bakau *Avicennia marina*, yaitu *Aspergillus* sp. dan *Acremonium* sp. kedua isolat menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. *Acremonium* sp. memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan jamur *Aspergillus* sp. terhadap bakteri *S. aureus*, di sisi yang lain jamur *Aspergillus* sp. menunjukkan aktivitas

antibakteri yang tinggi terhadap bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif.

Daftar Pustaka

- Aly, A. H. Protein kinase inhibitors and other cytotoxic metabolites from the fungal endophyte *Stemphylium botryosum* isolated from *Chenopodium album*. *Mycosphere*. 2010. 1. 2. 153
- Aly, A. H., Debbab, A., Clements, C., Edrada-Ebel, R., Orlikova, B., Diederich, M., Wray, V., Lin, W. and Proksch, P. NF kappa B inhibitors and antitrypanosomal metabolites from endophytic fungus *Penicillium* sp. isolated from *Limonium tubiflorum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011. 19. 1. 414-421
- Aly, A. H., Debbab, A. and Proksch, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011. 90. 6. 1829-1845
- Bara, R., Aly, A. H., Pretsch, A., Wray, V., Wang, B., Proksch, P. and Debbab, A. (2013). Antibiotically active metabolites from *Talaromyces wortmannii*, an endophyte of *Aloe vera*.
- Bara, R., Aly, A. H., Wray, V., Lin, W., Proksch, P. and Debbab, A. Talaromins A and B, new cyclic peptides from the endophytic fungus *Talaromyces wortmannii*. *Tetrahedron Letters*. 2013. 54. 13. 1686-1689
- Bara, R., Zerfass, I., Aly, A. H., Goldbach-Gecke, H., Raghavan, V., Sass, P., MÄndi, A., Wray, V., Polavarapu, P. L., Pretsch, A., Lin, W., KurtÄjn, T., Debbab, A., BrötZ-Oesterhelt, H. and Proksch, P. Atropisomeric Dihydroanthracenones as Inhibitors of Multiresistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. 56. 8. 3257-3272.
- Bara, R. A., Zerfaß, I., Lai, D., Lin, W., Debbab, A., BrötZ-Oesterhelt, H. and

- Proksch, P. New Natural Product from *Botryosphaeria australis*, an Endophyte from Mangrove *Avicennia marina*. Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology. 2013. 8. 3. 139-145.
- Debbab, A., Aly, A. and Proksch, P. Bioactive secondary metabolites from endophytes and associated marine derived fungi. Fungal Diversity. 2011. 49. 1. 1-12
- Debbab, A., Aly, A. and Proksch, P. Endophytes and associated marine derived fungi-ecological and chemical perspectives. Fungal Diversity. 2012. 57. 1. 45-83
- Debbab, A., Aly, A. H., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Müller, W. E. G., Totzke, F., Zirrgiebel, U., Schälchtele, C., Kubbutat, M. H. G., Lin, W. H., Mosaddak, M., Hakiki, A., Proksch, P. and Ebel, R. Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Stemphylium globuliferum* isolated from *Mentha pulegium*. Journal of Natural Products. 2009. 72. 4. 626-631
- Debbab, A., Aly, A. H., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Pretsch, A., Pescitelli, G., Kurtan, T. and Proksch, P. New Anthracene Derivatives – Structure Elucidation and Antimicrobial Activity. European Journal of Organic Chemistry. 2012. 7. 1351-1359
- Devi, P., Rodrigues, C., Naik, C. and D'Souza, L. Isolation and Characterization of Antibacterial Compound from a Mangrove-Endophytic Fungus, *Penicillium chrysogenum* MTCC 5108. Indian Journal of Microbiology. 2012. 52. 4. 617.
- Duke, N. C. A systematic revision of the mangrove genus *Avicennia* (Avicenniaceae) in Australasia. Australian Systematic Botany. 1991. 4. 229-334.
- Ebrahim, W., Aly, A. H., Mándi, A., Totzke, F., Kubbutat, M. H. G., Wray, V., Lin, W.-H., Dai, H., Proksch, P., Kurtán, T. and Debbab, A. Decalactone derivatives from *Corynespora cassiicola*, an endophytic fungus of the mangrove plant *Laguncularia racemosa*. European Journal of Organic Chemistry. 2012. 2012. 18. 3476-3484.
- Feng, Y., Li, X. M., Duan, X. J. and Wang, B. G. Iridoid glucosides and flavones from the aerial parts of *Avicennia marina*. Chem Biodivers 2006. 3. 799–806.
- Huang, H., She, Z., Lin, Y., Vrijmoed, L. L. P. and Lin, W. Cyclic Peptides from an Endophytic Fungus Obtained from a Mangrove Leaf (*Kandelia candel*). Journal of Natural Products. 2007. 70. 11. 1696-1699.
- Ito, C., Katsuno, S., Kondo, Y., Tan, H.-W. and Furukawa, H. Chemical constituents of *Avicennia alba*. Isolation and structural elucidation of new naphthoquinones and their analogues. Chem Pharm Bull. 2000. 48. 339–343.
- Koenig, G. and Rimpler, H. Iridoid glucosides in *Avicennia marina*. Phytochemistry. 1985. 24. 1245-8.
- Li, H., Xueshi, H., Dahse, H. M., Moellmann, U., Grabley, S., Wenhan, L. and Sattler, I. (2008). New Abietane Diterpenoids from the Mangrove : *Avicennia marina*. Stuttgart, ALLEMAGNE, Thieme.
- Madjowa, H., Posangi, J. and Rompas, R. M. Studi etnofarmakologi organisme laut yang terdapat dari Pulau Mantehage. Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Unsrat. 2000. 90 hal.
- Nainggolan, J. I. Metode dan Teknik Penelitian Antimikroba Antibakteri. diperoleh dengan wawancara pribadi dengan narasumber. 2000.
- Noverita, Dinah Fitria and Sinaga, E. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* Val.. 2009. 4.
- Poole, K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. Annals of Medicine. 2007. 39. 3. 162-176

- Proksch, P., Putz, A., Ortlepp, S., Kjer, J. and Bayer, M. Bioactive natural products from marine sponges and fungal endophytes. *Phytochemistry Reviews*. 2010. 9. 4. 475-489.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. and Harper, J. Natural Products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*. 2004. 67. 2. 257-268.