

STUDI *IN SILICO* DAN *IN VITRO*: AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MANGROVE (*Rhizophora stylosa*) DENGAN TARGET PERUSAKAN DINDING SEL *Escherichia coli*

AN *IN SILICO* AND *IN VITRO* STUDY: ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MANGROVE ETHANOLIC EXTRACT (*Rhizophora stylosa*) TARGETTED ON CELL WALL DESTRUCTION OF *Escherichia coli*

Ismanurrahman Hadi^{1*}, Mariam Ulfah¹, Like Efriani¹, Teguh Adiyas Putra¹, Ade Irawan¹

¹Departemen Farmasi, STIKes Muhammadiyah Cirebon

Jl. Kalitanjung No.14 - 18 A, Harjamukti, Kec. Harjamukti, Kota Cirebon, Jawa Barat

*Email Corresponding: ismanhadi12@gmail.com

Submitted :28 November 2022 Revised : 7 January 2023 Accepted: 21 February 2023

ABSTRAK

Rhizophora stylosa merupakan sub-spesies dari tumbuhan bakau yang diketahui secara empiris digunakan sebagai obat tradisional. Habitat yang berada di perairan payau menyebabkan tumbuhan ini memiliki senyawa fitokimia yang berbeda dari tumbuhan lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi aktivitas antibakteri dari *R. stylosa* pada bakteri *Escherichia coli* dengan menarget perusakan dinding bakteri. Penelitian ini menggunakan pendekatan komputasional disertai uji aktivitas antibakteri dan kadar kebocoran protein. Prediksi aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan *molecular docking* pada *penicillin-binding protein* (PDB ID: 3UY6), sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode *Mc konkey* dilanjutkan dengan analisis kadar kebocoran protein (*protein leakage*) menggunakan uji *Bradford*. Uji identifikasi kandungan fitokimia juga dilakukan untuk memastikan kandungan fitokimia yang ada pada ekstrak etanol bakau. Hasil studi *in silico* menunjukkan adanya afinitas lebih tinggi dari semua senyawa uji dibandingkan *amoxicillin* pada *penicillin-binding protein*. Sementara itu, hasil studi *in vitro* menunjukkan nilai rata – rata diameter zona hambat (DZH) uji yaitu: 6,63 mm (40%); 6,67 (60%); 9,00 (80%) serta 13 mm (*amoxicillin*); serta uji *protein leakage* menunjukkan adanya kebocoran protein pada semua seri konsentrasi sampel dan standar *amoxicillin*. Analisis statistika menunjukkan ekstrak bakau kadar 80% memiliki aktivitas antibakteri dan *protein leakage* tertinggi, meskipun efeknya tidak sekuat *amoxicillin*. Berdasarkan hal tersebut, maka dapat disimpulkan ekstrak etanol bakau (*R. stylosa*) memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri yang menargetkan kerusakan dinding sel.

Kata Kunci: *Rhizophora stylosa*, antibakteri, *molecular docking*, *in vitro*

ABSTRACT

Rhizophora stylosa; one of the mangrove sub-species was used in traditional medicine. The unique habitat of these plants caused the metabolism of different phytochemical compounds than others. This study aims to investigate both the antibacterial activity and mechanism of bacterial wall destruction of *R. stylosa* against *Escherichia coli*. This study used a predictive approach using *molecular docking* (*in silico*) and actual activity using an *in vitro*

study and Bradford assay. The *in silico* was carried out using molecular docking on penicillin-binding protein (PDB ID: 3UY6), while the *in vitro* study was performed using the Mc Konkey method followed by Bradford assay to quantify protein leakage. The screening of phytochemical content was also carried out to ensure the phytochemical content in the ethanolic extract of mangroves. The results of the *in silico* test showed the compounds used have higher affinity than amoxicillin. The *in-vitro* test showed the inhibition zone diameter each 6.63 mm (40%); 6.67 (60%); 9.00 (80%) and 13 mm (amoxicillin). Meanwhile, the Bradford assay indicates that all treatment groups have protein leakage that increased as the concentration of extract. Statistical analysis showed that 80% of mangrove extract had the highest antibacterial activity and protein leakage, although the effect was not as strong as amoxicillin. Based on this, it can be concluded that the ethanolic extract of mangrove (*R. stylosa*) has the potential to be developed as an antibacterial agent that targets cell wall damage.

Keywords: *Rhizophora stylosa*, Antibacterial, Molecular docking, In-vitro

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan invasi mikroorganisme patogen ke dalam tubuh manusia. Pengobatan lini terapi pertama terhadap infeksi oleh bakteri patogen dilakukan menggunakan antibiotik golongan penisilin. Golongan antibiotik ini dicirikan oleh struktur farmakofor cincin beta laktam yang memberikan efek bakterisida dan bakteristatik melalui mekanisme kerusakan terhadap dinding sel bakteri (Geng et al., 2022; Kong et al., 2010). Meskipun begitu, penggunaan secara terus menerus golongan antibiotik ini dapat menyebabkan timbulnya resistensi. Seiring dengan peningkatan pemakaiannya, terdapat peningkatan kasus resistensi bakteri terhadap golongan beta laktam. Beberapa jenis bakteri diketahui dapat mengeluarkan enzim beta laktamase yang mampu merusak struktur dasar dari cincin beta laktam, sehingga menghilangkan aktivitas antibakterinya (Stover et al., 2019).

Tumbuhan bakau (*Rhizophora stylosa*) merupakan salah satu tumbuhan pada habitat perairan dengan kondisi kadar garam tinggi yang berbatasan dengan wilayah perairan tawar. Habitat tumbuh tumbuhan inilah yang menyebabkan adanya perbedaan morfologi, fisiologi, dan mekanisme metabolisme mangrove dengan tumbuhan tingkat tinggi lainnya. Habitat tumbuh yang unik dari mangrove menyebabkan terbentuknya berbagai senyawa fitokimia khusus yang mampu menunjang perkembangan dan pertumbuhan bakau. Senyawa fitokimia tersebut teridentifikasi sebagai bagian dari golongan alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid. *R. stylosa* telah lama digunakan sebagai obat tradisional pada beberapa wilayah di Indonesia. Pemanfaatannya sebagai obat tradisional diantaranya adalah sebagai antiradang, obat demam, dan asma (Arbiastutie et al., 2021; Das et al., 2015).

Berbagai penelitian telah banyak dilakukan untuk membuktikan potensi farmakologis dari senyawa fitokimia bakau, diantaranya adalah pengujian dari ekstrak etanol dari sub keluarga *Rhizophora sp* dan *Avicennia marina* diketahui memiliki efek antifungi terhadap *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* dan *Penicillium italicum* (Mitra et al., 2021). Penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa metabolit sekunder dari sub-keluarga bakau diketahui memiliki efek antimalaria, antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antivirus. Selain itu, secara *in silico* senyawa fitokimia dari *R. stylosa* berpotensi sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis protein dan antivirus melalui penghambatan protein yang bertanggung jawab pada ekspresi gen (Hadi et al., 2022; Kumar et al., 2011; Rastegar and Gozari, 2016). Pengembangan bahan alam menjadi alternatif agen terapi sedang meningkat. Berdasarkan beberapa literatur, *R. stylosa* memiliki potensi yang besar terhadap untuk dikembangkan sebagai *plant-based medicine*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi terkait aktivitas antibakteri dari *R. stylosa* dengan target pada kerusakan dinding sel bakteri. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode pendekatan prediksi (*in silico*) dan *in vitro* pada bakteri *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu uji *in silico* yang meliputi: perangkat komputer (spesifikasi Windows 10 *operating system*, AMD A8 7410 *processor* (Quad-core; 2.2 GHz), 4 GB RAM); software *Marvin sketch* (ChemAxon), *discovery studio visualizer* (Biovia), *Autodock tools* (ADT), dan *Autodock vina*. Adapun untuk uji *in vitro* dan deteksi fitokimia menggunakan: perangkat lab kaca (gelas *Beaker*, *Erlenmeyer*, tabung reaksi, gelas ukur dll), *waterbath*, *rotary evaporator* (Buchi), *incubator* (Buchi), dan *laminar air flow*

Bahan yang digunakan dalam uji *in silico* meliputi : *penicillin binding protein* (PDB ID: 3UY6) yang didapatkan dari website database RCSB.org dan struktur dari senyawa fitokimia dalam *R. stylosa* (*Ergotamin*, *Ergosin*, *Taraxerol*, *Rhizophorins C*, dan *Daucosterol*) yang didapatkan dari *chemical web library database* (Pubchem.org). Identifikasi fitokimia dan *in vitro* menggunakan ekstrak etanol *R. stylosa*, bakteri *E. coli*, *amoxicillin*, FeCl_3 , H_2SO_4 , HCl , aquadest, *Bradford reagent* (Merck), *Bovine serum albumin* (Himedia), *Mueller hinton agar* (MHA) (Himedia), dan *Mac konkey disc*

Prosedur Penelitian

1. Maserasi daun *R. stylosa*

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan serbuk simplisia kering daun *R. stylosa* yang direndam dalam pelarut etanol 70% (4 hari). Maserat dipisahkan menggunakan metode penyaringan. Setelah itu, filtrat dihilangkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* ($\pm 50^\circ\text{C}$) sehingga diperoleh ekstrak pekat. Endapan simplisia diremaserasi kembali selama 3 hari.

2. Identifikasi senyawa fitokimia ekstrak etanolik *R. stylosa*

a. Golongan Flavonoid

1). Ekstrak yang sudah dilarutkan ditetesi HCl pekat. Campuran dipanaskan di penangas air selama 5 menit. Hasil uji flavonoid ditandai dengan adanya warna merah kecoklatan (Khattab et al., 2012).

2). Ekstrak yang sudah dilarutkan ditetesi dengan larutan Pb asetat 5%. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya flavonoid (Khattab et al., 2012).

b. Golongan Terpenoid

Ekstrak yang sudah dilarutkan ditetesi dengan HCl pekat sebanyak 3 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 1 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau ungu pada sampel uji (Theeba and Sasikumar, 2015).

c. Golongan Polifenol

Ekstrak yang sudah dilarutkan ditetesi dengan FeCl_3 10% sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu kehijauan atau biru kehijauan pada sampel uji (Auwal et al., 2014).

3. Uji *in silico*: *molecular docking* beberapa senyawa fitokimia *R. Stylosa*

Ligan pada uji ini adalah *Ergotamin*, *Ergosin*, *Taraxerol*, *Rhizophorins C*, dan *Daucosterol*. Bentuk molekul ligan dioptimasi menggunakan konformasi 3D menggunakan *Marvin Sketch*. Adapun protein yang dipakai *penicillin binding protein* (PBP) (PDB ID: 3UY6) dipreparasi untuk menghilangkan ion, air dan *native ligand* lain; memberikan *kolmann-charge* serta isolasi grid (*grid box*) pada posisi *grid box* senyawa antibiotik standar (*amoxicillin*). Protein dan ligan *didockingkan* menggunakan *AutoDockTools*. Hasil yang didapat dipilih pada $\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$ untuk divisualisasikan pada *DS Visualizer*. Validasi dilakukan dengan memilih afinitas pada nilai $\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$ (Trott and Olson, 2010; Vennila et al., 2014).

4. Uji *in vitro*: uji antibakteri ekstrak etanol *R. stylosa*

Ekstrak etanol dibuat menjadi 3 seri konsentrasi yaitu 40%; 60%; dan 80%. Media MHA digunakan untuk kultur bakteri *E. coli*. Selanjutnya ketiga seri konsentrasi

sampel ekstrak ditetaskan ke dalam kertas cakram sebanyak 10 µL lalu diletakkan dalam media MHA yang sudah diinokulasikan bakteri. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, masing-masing cawan dihitung diameter zona hambat bakterinya.

5. Analisis *protein leakage* bakteri

Bakteri uji ditumbuhkan dalam *media broth* dengan perlakuan 40%, 60% dan 80% ekstrak. Bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi diambil (20 mL) lalu disentrifugasi pada 6000 RPM selama 15 menit. Supernatan diambil 400µL dicampurkan dengan 1,6 mL reagen Bradford dinkubasi 10 menit pada kondisi gelap. Standar yang digunakan adalah *bovine serum albumin* (BSA). Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada 595 nm (Gunalan and Rajendran, 2012).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji *in silico* dan *in vitro* dianalisis dengan menggunakan metode statistika dan komparasi. Uji *In silico* dianalisis dengan membandingkan hasil afinitas *post* dan *pre docking* spesifik pada *grid binding cavity* senyawa obat *amoxicillin*. Sedangkan untuk uji *in vitro*, data yang diperoleh diujikan dengan metode statistik parametric *one-way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

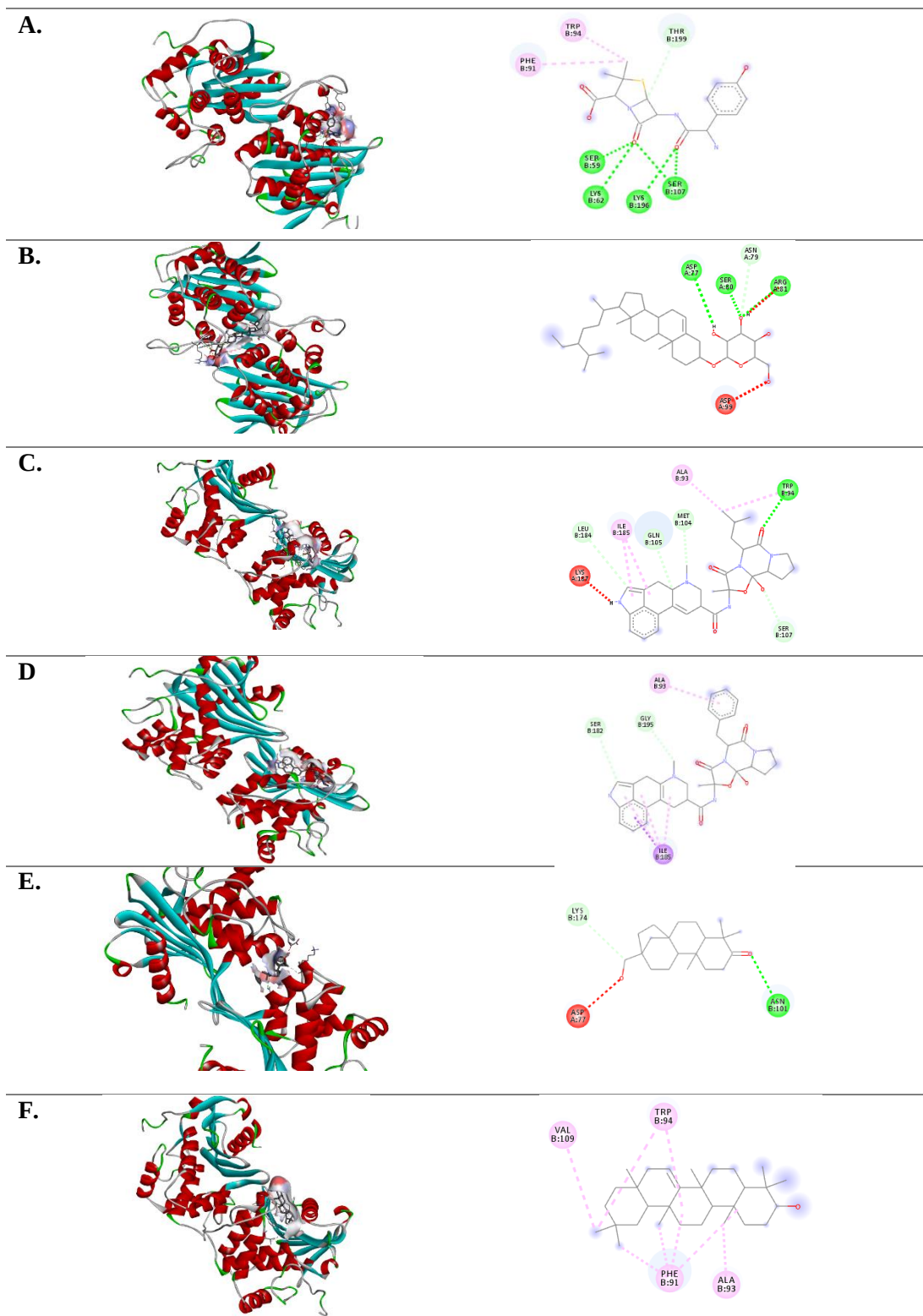
Rhizophora stylosa merupakan *subspecies* mangrove yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi sumber dari agen fitoterapi. Berbagai penelitian telah dilakukan membuktikan adanya berbagai aktivitas farmakologis ekstrak maupun golongan senyawa fitokimianya. Salah satu hasil penelitian tersebut adalah pada aktivitas antibakteri (Hadi et al., 2022; Kumar et al., 2011). Penelitian ini dilakukan untuk menelusuri aktivitas antibakteri yang ditargetkan pada kerusakan dinding sel bakteri. Pendekatan yang digunakan adalah prediksi aktivitas secara *in silico* dan dilanjutkan pembuktian aktivitas dengan uji *in vitro*.

Tabel I. Hasil Uji Molecular Docking Beberapa Senyawa Fitokimia *R. Stylosa* pada Penicillin Binding Proteins.

Ligands	Penicillin-binding Proteins (PDB ID: 3UY6).	
	Afinitas	Ikatan asam amino
Amoxicillin	-6.7	1. Conventional hydrogen bond: Serine (59), lysine (62), lysine (196), serine (107) 2. Carbon-hydrogen bond: tryptophan (94), phenylalanine (91) 3. pi-alkyl bond : threonine (199)
Ergotamine (C ₃₃ H ₃₅ N ₅ O ₅)	-11.4*	1. Carbon-hydrogen bond: glycine (195), serine (182) 2. Pi-sigma bond: isoleucine (185) 3. Pi-alkyl bond: alanine (93)
Ergosine (C ₃₀ H ₃₇ N ₅ O ₅)	-9.8*	1. Conventional hydrogen bond: tryptophan (94)** 2. Carbon-hydrogen bond: Methionine (104), glutamine (105), leucine (184) 3. Donor- donor bond : lysine (187)
Taraxerol (C ₃₀ H ₅₀ O)	-8.0*	1. Pi-alkyl bond : alanine (93), phenylalanine (91)**, tryptophan (94)**, valine (109)
Rhizophorins C (C ₂₀ H ₃₀ O ₂)	-7.7*	1. Conventional hydrogen bond: asparagine (101) 2. Carbon-hydrogen bond: Lysine (174) 3. Acceptor-acceptor bond: aspartic acid (77)
Daucosterol (C ₃₅ H ₆₀ O ₆)	-8.0*	1. Conventional hydrogen bond: Aspartic acid (77), serine (80), arginine (81) 2. Carbon-hydrogen bond: asparagine (79) 3. Donor-acceptor bond : aspartic acid (99)

Keterangan : *) Afinitas lebih tinggi; **) ikatan asam amino yang sama dengan standar *amoxicillin*

Tabel II. Visualisasi hasil uji ikatan senyawa fitokimia pada *penicillin binding protein* (PDB ID : 3UY6).



Keterangan:

(A) Amoxicillin; (B) Daucosterol; (C) Ergosinine;
(D) Ergotamine; (E) Rhizoporin C; (F) Taraxerol.

Eksperimen *in silico* dilakukan menggunakan senyawa *Ergotamine*, *Ergosine*, *Taraxerol*, *Rhizophorins C*, dan *Daucosterol*. Pengujian dilakukan untuk mendapatkan nilai afinitas yang merupakan nilai prediksi aktivitas antibakteri dari senyawa uji. Nilai afinitas dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti energi Gibbs, elektronegatifitas, dan muatan energi yang dimiliki serta adanya ikatan antara senyawa uji dengan residu asam amino yang terdapat pada *binding cavity* dari protein uji (Vennila et al., 2014). Nilai yang dihasilkan memiliki penanda negatif yang menandakan adanya energi yang digunakan. Semakin tinggi nilai tersebut, semakin kuat potensi aktivitas antara molekul senyawa dengan protein uji (Trott and Olson, 2010). *Penicillin binding protein* merupakan protein target dari obat golongan *penicillin* sehingga dapat menghasilkan aktivitas antibakteri. Hasil uji menunjukkan semua senyawa uji memiliki afinitas lebih tinggi daripada *amoxicillin* yang menjadi standar obat. Hasil tersebut menunjukkan senyawa fitokimia yang diujikan memiliki potensi efek antibakteri yang lebih kuat dari senyawa obat standar. Selain itu, ditinjau dari posisi *binding cavity* dan ikatan dengan asam aminonya, senyawa *ergosin* dan *taraxerol* memiliki ikatan yang sama yaitu pada *tryptophan* (94) dan *phenylalanine* (91). Hal ini menandakan adanya kemungkinan kedua senyawa ini memiliki mekanisme yang menyerupai *amoxicillin*. Hasil nilai afinitas dan ikatan residu asam amino, serta visualisasinya dapat dilihat pada **Tabel I** dan **Tabel II**.

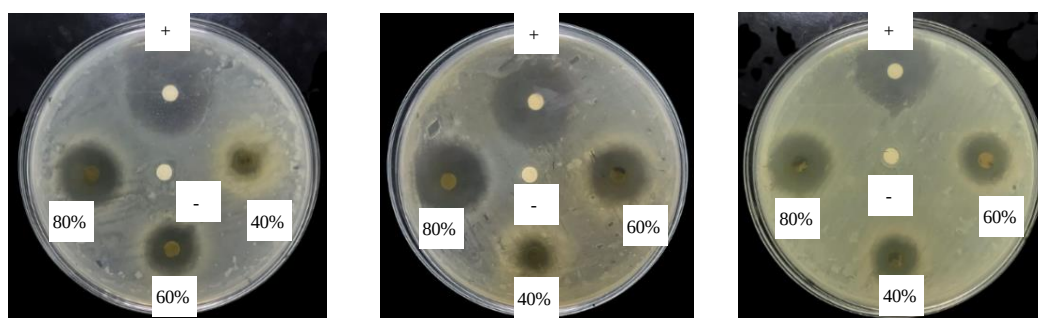
Ekstrak etanol bakau (*R. stylosa*) didapatkan dari proses ekstraksi dengan metode maserasi. Analisis dilakukan secara kualitatif untuk memastikan kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak menggunakan metode kolorimetri. Hasil dari pengujian menunjukkan ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan polifenol. Hasil uji dapat dilihat pada **Tabel III**.

Tabel III. Identifikasi Beberapa Senyawa Fitokimia yang Terkandung dalam Ekstrak Etanol Bakau (*R. Stylosa*).

Golongan	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Positif	Adanya warna merah kecoklatan
	Positif	Terbentuk endapan putih pada dasar tabung reaksi
Terpenoid	Positif	Terbentuk warna merah keunguan
Polifenol	Positif	Terbentuk warna biru kehijauan

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Mc konkey* yang memanfaatkan *paper disc* sebagai medium penampung ekstrak. Metode ini mengukur kemampuan antibakteri sampel melalui pengukuran dari diameter zona hambat (DZH) yang terbentuk pada koloni bakteri. Medium yang telah diinkubasi selama 24 jam memberikan kesempatan bakteri untuk membentuk koloni. Zona hambat akan terbentuk pada daerah yang tidak dapat ditumbuhi oleh koloni bakteri tersebut. Berdasarkan hasil uji, terdapat zona hambat pada kontrol positif, serta konsentrasi 40%, 60% dan 80% ekstrak bakau (**Gambar 1**). Hasil pengukuran DZH menunjukkan nilai rata – rata DZH 6,63 mm (40%); 6,67 (60%); 9,00 (80%) serta 13 mm (*amoxicillin*).

Hasil penelitian memberikan informasi mengenai adanya pola peningkatan efek antibakteri seiring dengan penambahan konsentrasi sampel (**Tabel IV**). DZH terbentuk akibat dari adanya kemampuan antibakteri yang mencegah terbentuknya koloni bakteri. Adapun kekuatan antibakteri berdasarkan DZH dapat dimasukkan dalam rentang kriteria lemah (<5mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (> 20 mm) (Balouiri et al., 2016; R et al., 2015). Analisis kekuatan antibakteri hasil uji menunjukkan adanya kemampuan yang kuat (80% dan *amoxicillin*) dan sedang (40% dan 60%). Meskipun begitu, analisis statistika pada DZH menunjukkan efek antibakteri dari sampel konsentrasi 80% masih belum setara atau melebihi *amoxicillin*.



Gambar 1. Hasil uji antibakteri ekstrak etanolik *R. stylosa* pada bakteri *E. Coli*

Tabel IV. Hasil analisis diameter zona hambat pada bakteri *E. coli*.

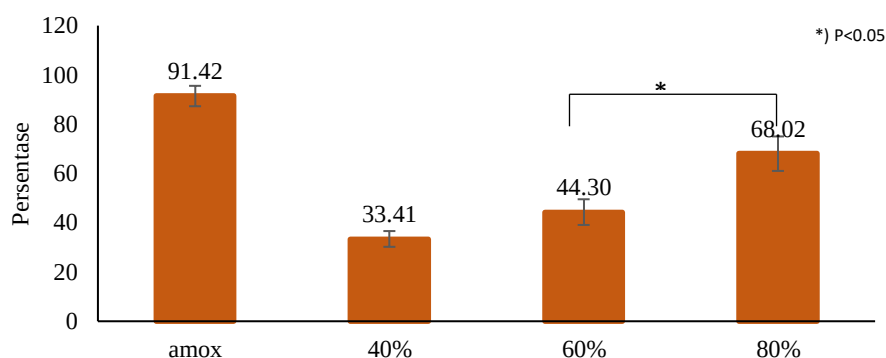
Bakteri	Kelompok	DZH (mm)			Rata-rata	SD	Kekuatan antibakteri
		Rep (1)	Rep (2)	Rep (3)			
<i>E.coli</i>	40%	7	7	6	6,33	0,58	Sedang
	60%	8	6	6	6,67	1,15	Sedang
	80%	10	10	7	9,00*	1,73	Kuat*
	amoxicillin(+)	12	13	14	13	1,15	Kuat
	kontrol (-)	0	0	0	0.00	0.00	Tidak ada

Keterangan:

*) DZH tertinggi dari sampel uji

Mekanisme antibakteri dapat muncul melalui beberapa mekanisme, salah satunya adalah rusaknya dinding sel bakteri. *Amoxicillin* merupakan antibiotik golongan beta laktam yang memiliki mekanisme ini. Dinding sel merupakan bagian bakteri yang membentuk struktur tubuh serta menjadi pelindung bakteri terhadap pengaruh lingkungan pada protein atau organel sel lainnya. Dinding sel yang telah rusak akan ditandai dengan keluarnya sitoplasma dan protein (*protein leakage*) dari bakteri (Gunalan and Rajendran, 2012). Pada pengujian yang dilakukan, terdapat adanya kebocoran protein pada semua seri konsentrasi sampel dan standar *amoxicillin* yang digunakan (Gambar 2). Seri konsentrasi tertinggi (80%) meskipun memberikan nilai yang lebih tinggi secara signifikan dari konsentrasi 60%, tetapi masih belum memberikan efek yang setara dengan *amoxicillin*.

Persentase *protein leakage* bakteri



Gambar 2. Persentase *protein leakage* dari bakteri *E. coli* pada *Amoxicillin* (91,42%), konsentrasi 40% (33,41%), 60% (44,30%), dan 80% (68,02%)

Penelitian ini memberikan gambaran potensi pengembangan dari *R. Stylosa* sebagai antibakteri dengan target aksi pengrusakan dinding sel. Hasil uji *in vitro* dan *protein leakage* menunjukkan adanya kemampuan ekstrak etanolik bakau sebagai antibakteri dengan target perusakan dinding sel. Ditunjang dari analisis prediktif *in silico*) yang mengkonfirmasi beberapa senyawa fitokimia bakau memberikan prediksi afinitas lebih baik dari *amoxicillin*. Hal ini memberikan gambaran baru arah pemanfaatan dari *R.stylosa* untuk digunakan sebagai agen antibakteri yang dapat menggantikan *amoxicillin*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji yang didapatkan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik *R. stylosa* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan target aksi perusakan dinding sel bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Riset dan teknologi dari Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah membiayai penelitian ini melalui program pendanaan penelitian program kompetitif nasional

DAFTAR PUSTAKA

- Arbiastutie, Y., Diba, F., Masriani, M., 2021. Short Communication: Ethnobotanical and ecological studies of medicinal plants in a mangrove forest in Mempawah District, West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 22. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220619>
- Auwal, M.S., Saka, S., Mairiga, I.A., Sanda, K.A., Shuaibu, A., Ibrahim, A., 2014. Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of *Acacia nilotica* (Thorn mimosa). *Vet Res Forum* 5, 95–100.
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, S.K., 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal* 6, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Das, G., Gouda, S., Mohanta, Y.K., Patra, J.K., 2015. Mangrove plants: A potential source for anticancer drugs. *IJMS Vol.44(05)* [May 2015].
- Geng, B., Huang, X., Wu, Y., He, Q., Yang, S., 2022. Identification and Characterization of Genes Related to Ampicillin Antibiotic Resistance in *Zymomonas mobilis*. *Antibiotics* 11, 1476. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111476>
- Gunalan, S., Rajendran, V., 2012. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International* 22, 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.11.015>
- Hadi, I., Irawan, A., Ulfah, M., Putra, T.A., Efriani, L., Haq, M.I., Purnama, M.R., 2022. Potential of Several Phytochemicals of Mangrove Species (*Rhizophora stylosa*) as Inhibitor of Both Viral Gene Expression and Bacterial Nucleic Acid Synthesis. 1 10, 81–88. <https://doi.org/10.30650/jik.v10i1.3278>
- Khattab, R.M., Gaballa, A., Zakaria, S., Ali, A.A.A., Sallam, I.E., Temraz, T.A., 2012. Phytochemical Analysis of *Avicennia marina* and *Rhizophora mucronata* by GC-MS. *International Journal on Environmental Sciences* 7, 115–120.
- Kong, K.-F., Schneper, L., Mathee, K., 2010. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology: BETA-LACTAM RESISTANCE. *APMIS* 118, 1–36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x>
- Kumar, V.A., Ammani, K., Siddhardha, B., 2011. *In vitro* antimicrobial activity of leaf extracts of certain mangrove plants collected from Godavari estuarine of Konaseema delta, India. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 1, 132–136.
- Mitra, S., Naskar, N., Chaudhuri, P., 2021. A review on potential bioactive phytochemicals for novel therapeutic applications with special emphasis on mangrove species. *Phytomedicine Plus* 1, 100107. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100107>

- R, R., Sudarwanto, M., Wientarsih, I., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences* 9. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2842>
- Rastegar, S., Gozari, M., 2016. Antioxidant and antifungal activities of two spices of mangrove plant extract. *Journal of Coastal Life Medicine*.
- Stover, K.R., Barber, K.E., Wagner, J.L., 2019. Allergic Reactions and Cross-Reactivity Potential with Beta-Lactamase Inhibitors. *Pharmacy* 7, 77. <https://doi.org/10.3390/pharmacy7030077>
- Theeba, P., Sasikumar, R., 2015. Phytochemical examination, antioxidant potential and in vitro antibacterial studies of crude extracts of *Parthenium hysterophorus* linn. *Leaves* 7, 219–225.
- Trott, O., Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem* 31, 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Vennila, S., Bupesh, G., Saravanamurali, K., SenthilKumar, V., SenthilRaja, R., Saran, N., Magesh, S., 2014. Insilico docking study of compounds elucidated from *helicteres isora* fruits with ampkinese- insulin receptor. *Bioinformation* 10, 263–266. <https://doi.org/10.6026/97320630010263>

