

INTISARI

Biofilm adalah multikoloni bakteri ataupun jamur yang menempel pada permukaan dan menghasilkan matrik ekstraseluler yang meningkatkan resistensi terhadap antimikroba. Biofilm ini terkait dengan berbagai penyakit infeksi seperti pada infeksi luka diabetes dan infeksi saluran kemih. Pencarian kandidat senyawa antibiofilm dari jamur yang berasosiasi dengan spons laut menjadi salah satu strategi untuk mengatasi biofilm polimikroba. Isolasi dan penentuan struktur senyawa aktif dari jamur *Trichoderma reesei* strain JCM 2267 yang berasosiasi dengan spons *Stylissa flabelliformis* sebagai antibiofilm belum pernah dilakukan sebelumnya

Jamur *Trichoderma reesei* JCM 2267 difermentasi menggunakan metode *Solid-state Fermentation* dalam medium beras dan metode *Submerged Fermentation* dengan medium SDLM dengan variasi waktu. Pemisahan dan pemurnian senyawa menggunakan Kromatografi Kolom Vakum dan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dengan pengujian aktivitas antibakteri, penghambatan pembentukan dan eradikasi biofilm fase 24 dan 48 jam. Senyawa aktif diidentifikasi strukturnya menggunakan Spektroskopi Massa dan NMR dan diuji aktivitasnya sebagai antibiofilm mono dan polibakteri, serta pengamatan morfologi biofilm menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

Hasil penelitian menunjukkan fermentasi jamur *Trichoderma reesei* JCM 2267 dalam medium beras selama 25 hari memiliki aktivitas antibakteri, penghambatan dan eradikasi biofilm serta bobot ekstrak yang tinggi. Hasil isolasi mendapatkan dua senyawa dan teridentifikasi sebagai *(1,4-dioxan-2-yl)methyl acetate* dan asam tetradekanoat. Kedua isolat menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pembentukan biofilm mono- dan polibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC dengan nilai MBIC₅₀ 31,2 µM untuk *(1,4-dioxan-2-yl)methyl acetate* dan 21,9 µM untuk asam tetradekanoat. Profil biofilm diamati dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan ada perubahan morfologi dan struktur biofilm dengan adanya pengaruh kedua senyawa tersebut dibanding dengan kontrol pertumbuhan dan kontrol antibiotik. Hasil penelitian ini memberikan kontribusi pada upaya penemuan senyawa antibiofilm baru yang berasal dari jamur asosiasi spons laut sekaligus memberikan peluang eksplorasi mekanisme dan pengembangan obat berbasis produk alam dengan target spesifik yang lebih lanjut.

Kata kunci: Antibiofilm, biofilm polibakteri, metode fermentasi, spons *Styllisa flabelliformis*, *Trichoderma reesei* JCM 2267

ABSTRACT

A biofilm is multicellular colonies of bacteria or fungi that adhere to surfaces and formed an extracellular matrix that exhibit antimicrobial resistance. Biofilms are associated with various infectious diseases including diabetic foot infection and urinary tract infection. To address this challenge, exploring novel antibiofilm compounds derived from marine sponge-associated fungi represents a promising therapeutic strategy. This is the first investigation into the isolation *Trichoderma reesei* strain JCM 2267, a fungi-associated marine sponge *Stylissa flabelliformis* for potential antibiofilm polymicrobial.

Fungi *Trichoderma reesei* JCM 2267 was fermented using Solid-state Fermentation in rice medium and Submerged Fermentation with SDLM medium with various time of fermentation. Separation and purification of compounds using Vacuum Column Chromatography and Thin Layer Chromatography Preparation with antibacterial activity, inhibition of biofilm formation and eradication 24 and 48hours assays. Active compounds were structurally identified using Mass Spectroscopy and NMR than analyzed for activity as mono- and polybacterial antibiofilms, as well as observation of biofilm morphology using Scanning Electron Microscopy (SEM).

The results showed that fermentation of the fungus *Trichoderma reesei* JCM 2267 in a rice medium for 25 days produced antibacterial activity, biofilm inhibition and eradication, as well as a high extract weight. Two compounds were obtained from the isolation of *Trichoderma reesei* strain JCM 2267 including (*1,4-dioxan-2-yl*) methyl acetate and tetradecanoic acid. Both of the compound were clearly demonstrated their capacity to inhibit mono- and polybacterial biofilm formation against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, exhibiting minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC₅₀) values 31,2 μ M for (*1,4-dioxan-2-yl*) methyl acetate and 21,9 μ M for tetradecanoic acid. Scanning Electron Microscopy (SEM) revealed significant alterations in the biofilm's morphology and structure in the presence of both compounds, as compared to the growth control and antibiotic control. These findings contribute to the discovery of novel antibiofilm compounds derived from unexplored sponge-associated fungi, while also providing opportunities for further exploration of their mechanisms and the development of targeted natural product-based therapeutics

Keywords: Antibiofilms, fermentation methods, polybacterial biofilm, sponge *Stylissa flabelliformis*, *Trichoderma reesei* JCM 2267