

# Jurnal Ilmiah PLATAX

Universitas Sam Ratulangi

ISSN: 2302-3589 (Online)
E\_mail: pm\_plates@parcet.oc.id

# Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Simbion Lamun *Enhalus acoroides* asal Perairan Tiwoho. Minahasa Utara

(Antibacterial Activity of Endophytic Bacteria of Seagrass Symbiont **Enhalus acoroides** from Tiwoho Waters, North Minahasa)

Ni Komang P. Purniasih<sup>1</sup>, Elvy L. Ginting<sup>1</sup>, Stenly Wullur<sup>1</sup>, Remy E. P. Mangindaan<sup>1</sup>, Natalie D. C. Rumampuk<sup>1</sup>, Silvester B. Pratasik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115 Sulawesi Utara, Indonesia

<sup>2</sup>Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115 Sulawesi Utara, Indonesia

\*Corresponding author: like.ginting@unsrat.ac.id

#### **Abstract**

Nutrient-poor marine bacteria are often found to form a living mechanism by associating with other marine organisms such as seagrass E. acoroides. Seagrass serves as a habitat for marine biota and is known to produce bioactive compounds. Endophytic microbes that are symbiotic in seagrass have the ability to produce bioactive compounds similar to the bioactive compounds produced by their host. Therefore, this study aimed to obtain isolates of symbiont bacteria and to test their antibacterial activity. The symbiotic bacteria isolates were tested for their antibacterial activity using gram-negative bacteria such as E. coli and S. typhi, and gram-positive bacteria such as S. aureus and S. mutans. The antibacterial activity test was carried out using the paper disc method. Observation of antibacterial activity was carried out for 3x24 hours by observing the growth of the resulting inhibition zone. The zone of inhibition was measured to determine the diameter and strength of the bioactive compounds produced by symbiotic bacteria. A total of five isolates of symbiotic bacteria were obtained from the seagrass E. acoroides with varied morphological characteristics. The five isolates of symbiont bacteria showed antibacterial activity and could inhibit and kill pathogenic bacteria. One of the five isolates of symbiotic bacteria that produced the largest diameter of the inhibition zone was isolates F (En3) 4 mm in S. mutans test bacteria.

**Keywords:** Antibacterial, Isolation, *E. acoroides*, Symbionts, Tiwoho Abstrak

Bakteri laut vang miskin nutrisi banyak dijumpai membentuk mekanisme hidup dengan cara berasosiasi dengan organisme laut lainnya seperti lamun *E. acoroides*. Lamun berfungsi sebagai habitat biota laut dan diketahui dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Mikroba endofit yang bersimbiosis pada lamun mempunyai kemampuan untuk memproduksi senyawa-senyawa bioaktif yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi inangnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri simbion serta menguji aktivitas antibakterinya. Isolat bakteri simbion diuji aktivitas antibakterinya menggunakan bakteri uji gram negatif seperti E. coli dan S. typhi, dan bakteri uji gram positif seperti S. aureus dan S. mutans. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode kertas cakram. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan selama 3x24 jam dengan mengamati pertumbuhan zona hambat yang dihasilkan. Zona hambat diukur untuk mengetahui diameter dan kekuatan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri simbion. Sebanyak lima isolat bakteri simbion yang didapatkan dari lamun E. acoroides dengan karakteristik morfologi yang bevariasi. Kelima isolat bakteri simbion menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan dapat menghambat serta membunuh bakteri pathogen. Satu dari lima isolat bakteri simbion menghasilkan diameter zona hambat terbesar adalah F (En3) 4 mm pada pada bakteri uji S. mutans.

Kata kunci: Antibakteri, Isolasi, E. acoroides, Simbion, Tiwoho

# **PENDAHULUAN**

Bakteri merupakan kelompok organisme yang tidak mempunyai

membran sel, organisme ini termasuk dalam domain prokariota yang berukuran sangat kecil (mikroskopik), tetapi mempunyai peran besar dalam kehidupan di bumi (Poluan dkk., 2019). Bakteri laut miskin nutrisi banyak dijumpai membentuk mekanisme hidup dengan cara berasosiasi dengan organisme laut lainnya, seperti lamun. Menurut Asriyana dan Yuliana (2012). Ekosistem lamun berfungsi sebagai produsen primer, penangkap penghasil sedimen (sediment trap), oksiaen. tempat biota tinggal laut. melindungi pantai dengan cara meredam arus dan gelombang dan sebagai pendaur ulang zat hara (Devayani dkk., 2019; Patty, 2016).

Produktivitas yang tinggi tidak hanya berasal dari tumbuhan lamun itu sendiri. tetapi juga berasal dari alga dan organisme autotrof yang menetap dan menempel pada rhizoma, batang, dan daun lamun sebagai epifit dan endofit. Mikroba endofit dan epifit yang bersimbiosis pada lamun mempunyai kemampuan untuk memproduksi senyawa-senyawa bioaktif yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi inangnya (Nuriah, 2014; Strobel et al., 2003; Bara dkk., 2013). Purnama dan Brahmana (2018) menyatakan bahwa lamun E. acoroides dan T. hemprichii memiliki bioaktivitas antibakteri.

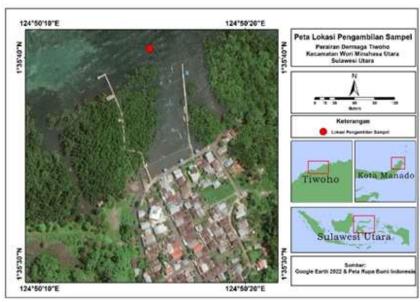
Pencarian antibakteri pada bakteri simbion dapat mengurangi ekploitasi berlebihan terhadap lamun. Selain itu, bakteri juga memiliki keunggulan untuk dimanfaatkan karena lebih mudah dan cepat bertumbuh serta dapat dikultur massal dengan biaya yang lebih murah. Seiring meningkatnya resistensi antibiotik dalam dunia kesehatan, diperlukan adanya kajian-kajian penemuan antibiotik baru yang dapat diperoleh dari senyawa bioaktif pada organisme laut. Penelitian ini bisa dijadikan kajian dalam penemuan antibiotik yang dapat digunakan dalam bidang farmasi.

Perairan Tiwoho merupakan salah satu daerah yang banyak ditumbuhi lamun *Enhalus acoroides*. Oleh sebab itu, bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* yang memiliki kemampuan aktivitas antibakteri dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri yang dihasilkannya.

#### **METODE PENELITIAN**

#### Waktu dan Tempat Penelitian

Lokasi pengambilan sampel lamun *Enhalus acoroides* dilakukan di Perairan Tiwoho, Kec. Wori, Kab. Minahasa Utara, Sulawesi Utara. Isolasi bakteri dan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada Laboratorium Biomolekuler dan Farmasitika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan dari bulan Mei – Juli 2022.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

### Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel lamun diambil ketika surut terendah air laut, yang dapat dilihat pada aplikasi Tides. Sampel lamun diambil dengan cara aseptik sebanyak 2 spesimen menggunakan alat steril, seperti gunting dan pinset. Kemudian sampel lamun dimasukkan ke dalam ziplock yang sudah diisi dengan air laut dari tempat sampel diambil. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam cool box dan dibawa ke Biomolekuler Laboratorium dan Farmasitika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado untuk pengujian di laboratorium. Sampel lamun diidentifikasi menggunakan Herandarudewi dkk. (2019), Zurba (2018), dan Syakur (2020).

# Persiapan Isolasi dan Kultur Bakteri

### a. Penyiapan Air Laut

Penyiapan air laut digunakan untuk membilas atau membersihkan sampel lamun yang baru diambil dari tempat pengambilan sampel sebagai bahan larutan untuk pembuatan media kultur dan pengenceran yang dilakukan. Air laut dibawa ke laboratorium kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga jernih. Hasil penyaringan tersebut kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

# b. Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

Media NA merupakan media yang berbentuk padat yang digunakan sebagai media kultur. Pembuatan media NA dilakukan dengan cara melarutkan NB sebanyak 0,8 gr dan bacto agar sebanyak 2 gr ke dalam erlenmeyer 100 ml larutan aquades dan air laut murni, dipanaskan menggunakan hotplate dan magnetic stirrer sampai mendidih. Media disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 6 petri.

# c. Pembuatan Media *Nutrien Broth* (NB)

Media NB merupakan media cair Nutrien Broth yang digunakan sebagai media kultur. Media cair NB di buat dengan cara melarutkan 0,8 gr NB ke dalam 100 ml larutan aquades dan air laut murni, diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Media cair NB dituang ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 16 tabung, masingmasing berisi sebanyak 6 ml. Media distrerilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### d. Larutan NaCl 0,9%

Media NaCl dibuat dengan cara melarutkan NaCl sebanyak 0,675 gr ke dalam 75 ml larutan aquades, diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga tercampur rata. Larutan NaCl dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 tabung, dengan masing-masing berisi sebanyak 9 ml. Larutan tersebut disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### Isolasi Bakteri

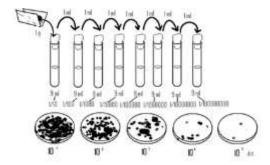
Isolasi yang dilakukan yaitu epifit dan endofit. Isolasi bakteri epifit dilakukan dengan cara mengoleskan sampel lamun permukaan media NA kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 33°C. Sedangkan Isolasi bakteri endofit diawali dengan melakukan pengenceran sampel lamun yang digerus. Tujuan pengenceran menggunakan metode spread ini untuk menumbuhkan dan mendapatkan koloni bakteri tunggal. Pengenceran bertingkat ini dilakukan dengan menimbang sampel lamun sebanyak 5 gram dan menakar 5 ml aquades steril untuk dilarutkan. Sampel digerus menggunakan mortar dan pestle, gerusan tersebut dipindahkan hasil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl steril sebanyak 9 ml. Pengenceran 10<sup>-1</sup> difortex sebelum dipindahkan ke pengenceran berikut. Pengenceran 10<sup>-1</sup> dipindahkan sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet kemudian dilanjutkan ke tabung kedua sampai tabung ketiga sehingga konsentrasi menjadi10<sup>-3</sup>. Pengenceran 10<sup>-</sup> <sup>1</sup>, 10<sup>-2</sup> dan 10<sup>-3</sup> dipindahkan ke media NA dengan menggunakan metode penyebaran (spread plate). Pemindahan dilakukan dengan cara mengambil 0,2 ml masingpengenceran menggunakan masing mikropipet, kemudian disebarkan secara merata menggunakan L-glass. Media yang berisi bakteri diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 33°C.

# Karakterisasi Morfologi Bakteri

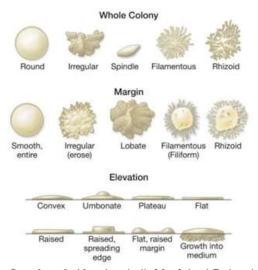
Isolat yang tumbuh diamati karakterisasi morfologinya dengan memperhatikan bentuk koloni, pinggiran, warna, dan elevasi, yang ditentukan dengan mengacu pada Leboffe dan Pierce (2012). Bakteri yang memiliki karakteristik morfologi berbeda pada isolasi epifit dan endofit diinokulasi pada media Inokulasi menggunakan metode gores dengan cara isolat bakteri tunggal diambil menggunakan jarum ose steril kemudian digores dengan garis zig-zag pada media NA.

### Karakterisasi Morfologi Bakteri

**Isolat** tumbuh diamati vang karakterisasi morfologinya dengan memperhatikan bentuk koloni, pinggiran, warna, dan elevasi, yang ditentukan dengan mengacu pada Leboffe dan Pierce (2012). Bakteri yang memiliki karakteristik morfologi berbeda pada isolasi epifit dan endofit diinokulasi pada media NA. Inokulasi menggunakan metode gores dengan cara isolat bakteri tunggal diambil menggunakan jarum ose steril kemudian digores dengan garis zig-zag pada media NA.



Gambar 2. Teknik Pengenceran Bertingkat, Sumber: Periadnadi, dkk.,(2015)



**Gambar 3.** Karakteristik Morfologi Bakteri Sumber: Leboffe dan Pierce (2012)

### Uji Aktivitas Antibakteri

# a. Kultur Isolat Bakteri dan Bakteri Uji pada Media NB

Bakteri uji yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri adalah *E. coli*, *S.* 

aureus, S. tiphy dan S. mutans diambil dari sediaan laboratorium. Isolat bakteri simbion dan bakteri uji diambil menggunakan jarum ose steril kemudian dipindahkan ke dalam media NB yang telah diberi label. Selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 33°C. Pengerjaan kultur bakteri dilakukan dalam laminar agar tetap terjaga dari kontaminasi.

# b. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Media MHA dibuat dengan cara melarutkan 3,4 gr ke dalam 100 ml larutan aquades dan air laut murni, dipanaskan menggunakan hotplate dan magnetic stirrer sampai mendidih. Lalu disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### c. Pembuatan Larutan Antibiotik

Antibiotik yang digunakan adalah antibiotik yang resisten pada setiap bakteri uji seperti Amoxcillin 500 mg, Ampicillin 500 mg, Ciprofloxacin 500 mg dan Chloramphenicol 250 mg sebagai pembanding zona hambat yang terbentuk. Larutan antibiotik dibuat dengan cara masing-masing melarutkan 0,10 ar antibiotik ke dalam aquades steril sebanyak 10 ml kemudian difortex hingga homogen.

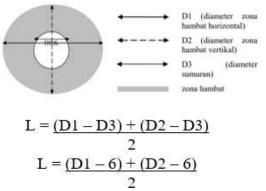
### d. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode kertas cakram (Hudzicki, 2009). Hasil kultur bakteri uji *E. coli*, *S. Aureus*, *S. Tiphy* dan *S. Mutans* dituang ke dalam cawan petri yang berisi

media MHA menggunakan mikropipet sebanyak mikron, lalu swab 90 menggunakan cotton swab steril. Kertas cakram dicelupkan ke dalam kultur bakteri simbion menggunakan pinset kemudian diletakkan dengan perlahan di permukaan media MHA atas vang mengandung bakteri uji. Selanjutnya perlakuan yang sama dilakukan terhadap seluruh kultur bakteri simbion dan antibitok. Setelah itu, media MHA diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 33°C.

Setelah 24 jam, zona hambat yang tumbuh di sekitar kertas cakram diamati serta diukur diameternya menggunakan penggaris dan dibandingkan dengan zona hambat kontrol positif. Pengukuran zona hambat dilakukan untuk menentukan kekuatan senyawa yang dihasilkan oleh bakteri simbon terhadap bakteri uji. Luas zona hambat yang terbentuk pada masingmasing bakteri simbion tersebut diukur dengan rumus Andries dan Supit (2014) yang ditampilkan pada Gambar 4.

Penentuan kekuatan zona hambat aktivitas antibakteri yang terbentuk ditentukan berdasarkan Davis dan Stout (1971). Diameter zona hambat < 5 mm masuk dalam kategori lemah, 5-10 mm kategori sedang, 10-20 mm kategori kuat dan >20 mm kategori sangat kuat.



**Gambar 4.** Pengukuran diameter zona hambat Sumber : Andries dan Supit (2014)

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Indentifikasi Lamun Enhalus acoroides

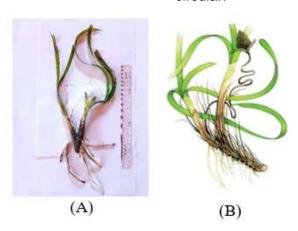
Berdasarkan hasil identifikasi sampel lamun yang diambil di Perairan Tiwoho diperoleh lamun *Enhalus acoroides*. Hasil indentifikasi menunjukkan bahwa sampel lamun yang diambil dari Perairan Tiwoho (Gambar 7A) memiliki kemiripan dengan lamun *Enhalus acoroides* (Gambar 7B) dengan ciri-ciri tumbuhan berukuran besar, daun mencapai 1 meter, dan tumbuh rambut pada rhizoma.

Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan lima isolat bakteri simbion endofit lamun *Enhalus acoroides* dan satu isolat bakteri simbion epifit lamun *Enhalus acoroides* dengan karakteristik morfologi yang berbeda dengan isolat lainnya. Karakteristik morfologi isolat bakteri simbion *Enhalus acoroides* yang berhasil kultur pada media NA ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1, isolat bakteri A (En1), B (En2), C (En4), D (En5), E (Ep1) dan F (En3) memiliki koloni yang dominan batas pinggirannya halus dengan ketinggian isolat dominan datar serta bentuk keseluruhan koloni dominan adalah bulat akan tetapi memiliki warna yang Berdasarkan berbeda. perbedaan morfologi tersebut mengindikasikan bahwa keenam isolat tersebut merupakan jenis bakteri yang berbeda.

Maarisit dkk. (2021) melaporkan bakteri simbion pada lamun T. hemprichii dari Perairan Bahowo berhasil diisolasi. Diperoleh tiga isolat bakteri epifit dengan karakteristik morfologi yang bervariasi. (2021)Susanti dan Elisdiana melaporkan isolat bakteri endofit pada lamun Enhalus acoroides dapat berkembang dengan baik pada media Zobell 2216E. Sampel lamun tersebut diambil dari dua tempat yaitu Pantai Biha dan Pantai Ketapang yang menghasilkan 53 koloni bakteri dengan beragam bentuk karakteristik morfologi.

Poluan *dkk*. (2019) berhasil mengisolasi bakteri simbion spons dari perairan Malalyang berjumlah lima isolat. Kelima isolat bakteri yang bersimbion dengan spons *Cribochalina* sp. memiliki karakteristik berbeda yang umumnya berwarna putih dan kuning dengan bentuk circular.



Gambar 5. Sampel Lamun *Enhalus acoroides* Sumber gambar: (B) Herandarudewi *dkk.* (2019)

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat bakteri simbion lamun Enhalus acoroides

Kode	Karakteristik Morfologi			
Isolat Bakteri Simbion	Batas Pinggiran	Ketinggian	Warna	Keseluruhan koloni
A (En1)	Halus, Utuh	Datar	Putih susu	Bulat
B (En2)	Berserabut	Datar	Bening	Tidak teratur
C (En4)	Tidak teratur	Datar	Bening	Tidak teratur
D (En5)	Halus, Utuh	Cembung	Krem	Bulat
E (Ep1)	Halus, Utuh	Dataran tinggi	Krem	Bulat
F (En3)	Halus, Utuh	Datar	Bening	Bulat

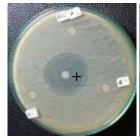
Ket: En: Endofit, Ep: Epifit

## Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Bakteri Uji *E. coli*

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *E. coli* menunjukkan hasil yang berbeda disetiap isolat. Terlihat zona hambat di sekitar kertas cakram yang dihasilkan oleh isolat bakteri simbion *Enhalus acoroides* yang ditunjukkan pada Gambar 6.

Uji aktivitas antibakteri kelima isolat bakteri terlihat adanya zona hambat di

sekitar kertas cakram, namun terbilang masih sangat kecil jika dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan antibiotik. Pembentukan zona hambat pada isolat bakteri simbion menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh patogen. Hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat pada kertas cakram ditunjukkan pada Tabel 2.





Gambar 6. Aktivitas antibakteri pada bakteri uji E. coli

Ket: a: Isolat A (Endofit 1), B (Endofit 2), dan C (Endofit 4) b: Isolat D (Endofit 5), E (Epifit 1), dan F (Endofit 3) +: Kontrol positif Ciprofloxacin

**Tabel 2.** Diameter zona hambat pada bakteri uji *E. coli* 

	Waktu Inkubasi				
Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)				
	24	48	72	Kontrol positif	
A (En1)	1,5	1,5	1,5	25	
B (En2)	2	2	2		
C (En4)	1,5	1,5	1,5		
D (En5)	3	3	3	25	
E (Ep1)	2	2	2		
F (En3)	2	2	2		

Diameter zona hambat vang terbentuk pada isolat A (En1) dan C (En4) yaitu 1,5 mm. Pada isolat B (En2), E (Ep1), dan F (En3) memiliki diameter 2 mm. Kemudian pada isolat D (En5) memiliki zona hambat lebih besar dari isolat lainnya yaitu 3 mm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat D (En5) memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghasilkan senyawa antibakteri dibandingkan isolat A (En1), B (En2), C (En4), E (Ep1), dan F (En3). Dapat dilihat bahwa zona hambat yang dihasilkan antibiotik lebih besar dari isolat bakteri yakni 25 mm. Tidak terjadi pertambahan diameter zona hambat hingga jam ke 72.

Zona hambat dari isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* pada bakteri uji *E. coli* tergolong dalam kategori lemah berdasarkan Davis dan Stout (1971).

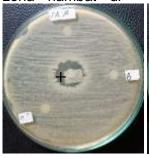
Antibiotik yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji E. coli yaitu Ciprofloxacin. Penggunaan antibiotik Ciprofloxacin disesuaikan dengan tingkat resistensi antibiotik tersebut terhadap bakteri uji. Sumampouw (2018)Ciprofloxacin melaporkan resisten terhadap bakteri uji *E. coli* dan dinyatakan bahwa Ciprofloxacin yang paling bagus untuk membunuh atau menghambat bakteri E. coli.

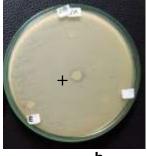
## Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Bakteri Uji S. aureus

Aktivitas antibakteri isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* dengan bakteri uji *S. aureus* menunjukkan hal yang berbeda dengan uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *E. coli.* Hasil uji aktivitas antibakteri dengan bakteri uji *S. aureus* ditunjukkan pada Gambar 7.

Pengamatan uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* isolat A (En1), B (En2), dan C (En4) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan zona hambat di

kertas cakram. Hal tersebut sekitar menunjukkan bahwa isolat A (En1), B С (En4) tidak memiliki (En2). dan kemampuan untuk menghambat atau membunuh bakteri uji S. aureus. Isolat D (En5), E (Ep1), dan F (En3) menunjukkan adanya pertumbuhan zona hambat dari jam ke 24. Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat D (En5), E (Ep1), dan F (En3) menghasilkan senyawa antibakteri yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri uji.





Gambar 7. Aktivitas antibakteri pada bakteri uji S. aureus

Ket: a: Isolat A (Endofit 1), B (Endofit 2), dan C (Endofit 4) b: Isolat D (Endofit 5), E (Epifit 1), dan F (Endofit 3) +: Kontrol positif *Ampicilin* 

**Tabel 3.** Diameter zona hambat pada bakteri uji *S. aureus* 

Kode	Waktu Inkubasi			
Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)			
ารงาสเ	24	48	72	<b>Kontrol positif</b>
A (En1)	0	0	0	12
B (En2)	0	0	0	
C (En4)	0	0	0	
D (En5)	2,5	2,5	2,5	12
E (Ep1)	3	3	3	
F (En3)	1,5	1,5	1,5	

Pada isolate A (En1), B (En2), dan C (En4) tidak terdapat pembentukan zona hambat pada isolate A (En1), B (En2), dan C (En4) namun pada isolat D (En5), E (Ep1), dan F (En3) terdapat zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat yang terbentuk pada isolat D (En5) yaitu 2,5 mm, isolat E (Ep1) 3 mm, dan isolat F (En3) 1,5 mm. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan antibiotik yaitu sebesar 12 mm. Tidak terjadi pertambahan diameter zona hambat hingga jam ke 72. Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan isolat bakteri

simbion lamun *Enhalus acoroides* pada bakteri uji *S. aureus* tergolong dalam kategori lemah berdasarkan Davis dan Stout (1971) lihat table 3.

Antibiotik yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* yaitu *Ampicilin*. Suheri *dkk.* (2015) melaporkan antibiotik *Ampicilin* memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan dikategorikan tingkat resistensinya sensitive.

Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Bakteri Uji *S. typhi*  Uji aktivitas antibakteri keenam isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* dengan bakteri uji *S. typhi* tidak terlihat zona hambat. Hasil menunjukkan hal yang berbeda dari seluruh uji aktivitas dengan bakteri uji *E. coli, S. aureus dan S. mutans* yang ditunjukkan pada Gambar 8.

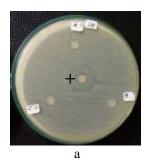
Kelima isolat bakteri simbion lamun E. acoroides tidak terlihat adanva pertumbuhan zona hambat di sekitar kertas cakram mulai dari jam ke 24 hingga ke 72. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelima isolat tersebut tidak mampu membunuh bakteri uji S. typhi. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri simbion lamun E. acoroides tidak memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat bakteri uji S. typhi.

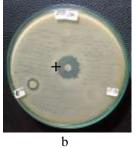
Antibiotik pada uji aktivitas antibakteri dengan bakteri uji *S. typhi* menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk sekitar kertas cakram. Suswati dan Juniarti (2011) melaporkan antibotik *Chloramphenicol* resisten terhadap bakteri gram negatif *S. typhi*.

# Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Bakteri Uji *S. mutans*

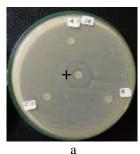
Uji aktivitas antibakteri isolat bakteri simbion lamun *E. acoroides* dengan bakteri uji *S. mutans* menunjukkan hasil yang berbeda pada isolat E (En3) yang ditampilkan pada Gambar 9.

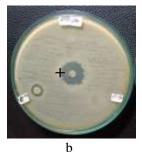
Hasil pengamatan keenam isolat bakteri yang diuji aktivitasnya pada bakteri uji S. mutans pada isolat A-D tidak menunjukkan adanya pertumbuhan zona hambat selama 72 jam. Sedangkan isolat E (Ep1) dan F (En3) jam ke 24 menunjukkan adanya zona hambat yang tumbuh di sekitar kertas cakram. Selanjutnya pada jam ke 48 dan 72 zona hambat kedua isolat tersebut tidak adanya pertambahan atau perubahan yang terjadi. Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat E (Ep1) dan F (En3) memiliki senyawa antibakteri yang dapat membunuh pathogen. Hasil pengamatan pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan pada Tabel 4.





**Gambar 8**. Aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. typhi* Ket: a: Isolat A (Endofit 1), B (Endofit 2), dan C (Endofit 4) b: Isolat D (Endofit 5), E (Epifit 1), dan F (Endofit 3) + : Kontrol positif *Chloramphenicol* 





**Gambar 9.** Aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. mutans*Ket : a : Isolat A (Endofit 1), B (Endofit 2), dan C (Endofit 4)
b : Isolat D (Endofit 5) dan E (Endofit 3)
+ : Kontrol positif *Amoxcilin* 

 Tabel 4. Diameter zona hambat pada bakteri uji S. mutans

	Waktu Inkubasi				
Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)				
	24	48	<b>72</b>	Kontrol positif	
A (En1)	0	0	0		
B (En2)	0	0	0	16,5	
C (En4)	0	0	0		
D (En5)	0	0	0	13	
E (En3)	4	4	4	13	

Zona hambat yang terbentuk pada isolat E (En3) sebesar 4 mm, sedangkan zona hambat yang dihasilkan antibiotik sebesar 13 mm. Dalam hal ini zona hambat yang terbentuk pada isolat E (En3) dapat dikategorikan sebagai zona hambat yang lemah berdasarkan Davis dan Stout (1971). Namun dilihat dari seluruh uji aktivitas antibakteri pada keempat bakteri uji menunjukkan bahwa pada bakteri uji S. mutans memiliki zoba hambat yang terbesar dalam penelitian ini.

Antibiotik yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. mutans* adalah *amoxcilin. Amoxcilin* dilaporkan dapat menghambat bakteri *S. mutans dengan cara* menembus pori-pori dalam membran fosfolipid luar (Yuniar *dkk.,* 2020).

aktivitas Skrining antibakteri mengindikasikan bahwa keenam isolat bakteri simbion lamun E. acoroides rentan terhadap bakteri gram negatif seperti E. coli serta bakteri gram positif seperti S. aureus dan S. mutans. Berbeda dengan isolat bakteri simbion lamun E. acoroides tidak rentan terhadap bakteri uji S. typhi. Menurut Idiawati, dkk. (2017), aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona kabut dan zona bening. Zona kabut menunjukkan aktivitas antibakteri yang sedangkan zona bening menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat.

Diameter zona hambat yang dihasilkan setiap isolat bakteri simbion lamun *E. acoroides* lebih kecil dari antibiotik. Hal tersebut dapat disebabkan karena antibakteri yang dihasilkan dari isolat bakteri simbion sedikit dan belum dimurnikan. Sedangkan antibiotik yang digunakan adalah senyawa antibakteri

yang sudah dimurnikan dan dipasarkan sebagai obat antibiotik.

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik yang resisten terhadap bakteri uji. Perbedaan zona hambat yang dihasilkan masing-masing isolat dapat disebabkan oleh perbedaan senyawa metabolit sekunder dihasilkan untuk menghambat bakteri pathogen (Hamdani, 2018). Zona hambat yang dibentuk oleh senyawa aktif dari isolat bakteri simbiom lamun diklasifikasikan ke dalam kategori lemah dengan diameter <5 mm berdasarkan Davis dan Stout (1971).

Hal tersebut menunjukkan besar kemungkinan bahwa isolat bakteri simbion lamun E. acoroides mempunyai aktivitas anti mikroba pada bakteri uji bersifat bakteriosid (membunuh bakteri). Bakteri negatif memiliki ketahanan gram mekanisme yang lemah karena struktruk dinding sel bakteri negatif gram mengandung lapisan polisakarida dan peptidoglikan lebih sedikit yang dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram positif. Bagian luar dari peptidoglikan tersusun atas lipoprotein, fosfolipid, dan yang polimer unik disebut yang lipopolisakarida (Hamidah, dkk. 2019; Firdausia, 2021).

Menurut Brooks et al. (2005) dan Purnamaningsih dkk. (2017),tingkat antibakteri toksisitas aktivitas dibagi meniadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan sel bakteri) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen). Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan, sedangkan bakterisidal dapat membunuh bakteri. Bakteriostatik dapat

bakteriosidal jika dalam konsentrasi yang tinggi.

Pada penelitian ini senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat A (En1), B (En2), dan C (En4), D (En5), dan E (En3) pada bakteri uji E. coli, S. aureus, dan S. mutans tidak bertambah atau berkurang seiring berjalannya waktu hingga jam ke 72. Oleh karena itu, isolat bakteri simbion positif E. acoroides lamun bersifat bakteriostatik dan bakteriosidal.

Menurut Dwijoseputro (1990), suatu antibakteri dapat disebut berspektrum luas apabila bakteri yang memiliki antibakteri yang mampu membunuh bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif dan disebut berspektrum sempit jika hanya dapat membunuh bakteri gram positif atau bakteri gram negatif saja. Isolat A (En1), B (En2), C (En4), D (En5), dan E (En3) dinyatakan berspektrum luas karena dapat membunuh bakteri gram negatif *E. coli* serta bakteri gram positif *S. aureus*, dan *S. mutans*.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Setyoningrum (2015), aktivitas antibakteri dari ekstrak lamun E. acoroides berasal dari Perairan Paciran. Kabupaten Lamongan terhadap bakteri S. aureus menunjukkan adanya zona hambat vang tumbuh disekitar kertas cakram. Bakteri yang menunjukkan aktivitas antibakteri setelah 24 jam masa inkubasi. Senyawa ini dihasilkan setelah melewati fase logaritma menuju fase stasioner. Penelitian serupa dari Purnama dan Brahmana (2018), terhadap bakteri simbion T. hemperichii dan E. acoroides dari Perairan Pantai Karang Tirta, Padang, Sumatera Barat mempunyai aktivitas anti bakteri mikroba pada uii bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri).

Mahbubah (2011)melaporkan diperoleh sembilan isolat bakteri yang bersimbiosis dengan tumbuhan lamun Enhalus sp. Satu dari sembilan isolat bakteri mempunyai aktivitas antibakteri terhadap Enterobacter Sp. dengan diameter zona hambat sebesar 0,34+0,13013 mm.

Pradana *dkk.* (2018) menyatakan efektivitas ekstrak Lamun *E. acoroides*, *C. rotundata*, dan *T. hemprichii* dapat

menghambat pertumbuhan bakteri. Aktivitas antibakteri dihasilkan yang mengandung senyawa bioaktif vana memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, seperti senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid yang mampu mengganggu membrane sel bakteri.

(2020)Andhikawati dkk. juga E. acoroides melaporkan lamun mengandung senyawa bioaktif berupa alkaloid, steroid dan tanin. Ekstrak metanol lamun E. acoroides terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan kekuatan sedang. Jika dibandingkan penelitian di atas, secara keseluruhan menunjukkan E. bahwa lamun acoroides dapat menghasilkan senyawa antibakteri karena mengandung senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya.

#### **KESIMPULAN**

Enam isolat bakteri simbion lamun Enhalus acoroides berhasil diisolasi dan menunjukkan aktivitas antibakteri dengan adanya zona hambat yang terbentuk. Isolat A (En1), B (En2), dan C (En4) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri uji E. coli. Isolat D (En5), memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri uji E. coli dan S. aureus. Isolat E (Ep1) dan F (En3) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri uji E. coli, S. aureus, dan S. mutans.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Andhikawati, A., Akbarsyah, N., dan Putra, P. K. D. 2020. Identifikasi Senyawa Bioaktif dan Potensi Aktivitas Antioksidan lamun *E. acoroides* (Linn. F). Jurnal Akuatek, 1(1), 66-72.
- Andries, J. R., Gunawan, P. N., dan Supit, A. 2014. Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri *S. mutans* Secara In Vitro. *e-GiGi*, 2 (2).
- Asriyana, S. P., dan Yuliana, S. P. 2021. Produktivitas Perairan: Edisi Revisi. Bumi Aksara.
- Bara, R., Amal, H., Wray, V., Lin, W., Proksch, P., dan Debbab, A. 2013. Talaromins A dan B, New cyclic Peptides from The Endophytic

- Fungus *Talaromyces worimannii*. Tetrahedron Letters, 54: 1686-1689.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. Medical Microbiology. McGraw Hill: New York.
- Davis, W. W., dan Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay: I. Factors Influencing Variability and Error. Applied Microbiology, 22(4), 659-665.
- Devayani, C. S., Hartati, R., Taufiq-Spj, N., Endrawati, H., dan Suryono, S. 2019. Analisis Kelimpahan Mikroalga Epifit pada Lamun *E. acoroides* di Perairan Pulau Karimunjawa, Jepara. Buletin Oseanografi Marina, 8(2), 67-74.
- Dwijoseputro, D. 1990. Dasar-dasar Mikrobiologi, Djambatan, Jakarta.
- Firdausia, R. Z. 2021. Perbandingan Dinding Sel pada Bakteri Gram Negatif, Gram Positif, dan Sel Tumbuhan. Universitas Isam Negeri Walisongo Semarang.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., dan Romadhon, R. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus.* Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan, 1(2), 11-21.
- Herandarudewi, S. M. C., Kiswara W., Irawan A., Juraij., Anggraeni, F., Sunuddin, S., Munandar, E., Tania, C., Khalifa, M. A. (2019). Panduan Survey dan Monitoring Duyung dan Lamun. ITB Press.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Beuer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology.
- Idiawati, N., Sofiana, M. S. J., dan Rousdy, D. W. 2017. Potensi Antibakteri dari Bakteri Berasosiasi *T. Hemprichii* Dari Perairan Lemukutan. Buletin Oseanografi Marina, 6(2), 130-133.
- Leboffe, M. J. dan Pierce, B. E. 2012. Microbiology: Laboratory Theory & Application, Essentials. Morton Publishing company. p. 58.

- Maarisit, I., Angkouw, E. D., Mangindaan, R. E., Rumampuk, N. D., Manoppo, H., dan Ginting, E. L. 2021. Isolation and Antibacterial Activity Test of Seagrass Epiphytic Symbiont Bacteria *T. hemprichii* from Bahowo Waters, North Sulawesi. Jurnal Ilmiah PLATAX, 9(1), 115-122.
- Mahbubah, A. S. 2011. Potensi Antibakteri Dari Bakteri Simbion Tumbuhan Lamun Enhalus Sp. Terhadap Bakteri *Mdr Enterobacter* sp. (Doctoral Dissertation, Diponegoro University).
- Nuriah, A. A. A. 2014. Aktivitas Antijamur Bakteri Endofit Lamun Terhadap Jamur Patogen. Skripsi Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNDIP Semerang.
- Patty, I.S. 2016. Pemetaan Kondisi Padang Lamun di Perairan Ternate, Tidore dan Sekitarnya.
- Poluan, G. G., Ginting, E. L., Wullur, S., Warouw, V., Losung, F., & Salaki, M. (2019). Karakteristik Morfologi Bakteri Simbion Spons Menyerupai *Cribochalina* sp dari Perairan Malalayang Sulawesi Utara. Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis, 7(3), 190-195.
- Pradana, N. E., Wardiwira, F. F., Hakim, L., Imamah, A. N., dan Istianisa, W. 2018. Efektivitas Ekstrak Lamun Cymodocea rotundata, T. hemprichii, dan E. acoroides dari Perairan Jepara Sebagai Antibakteri pada Fillet Ikan Nila (Oreochromis niloticus) Selama Penyimpanan Dingin. Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology, 13(2), 143-147.
- Purnama, A. A., dan Brahmana, M. E. 2018. Bioaktivitas Antibakteri Lamun *T. hemprichii* dan *E. acaroides*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. Vol. 6, No. 1, hal. 45-50.
- Purnamaningsih, N., Kalor, H., dan Atun, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Escherichia coli*

- ATCC 11229 dan *S. aureus* ATCC 25923. J Pen Sain, 22(2), 140-142.
- Setyoningrum, D. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun *E. acoroides* Dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan Terhadap Bakteri *S. aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Strobel, G., Daisy, B., U. Castillo., dan J. Harper. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 67(4): 491-502.
- Suheri, F. L., Agus, Z., dan Fitria, I. 2015. Perbandingan Uji Resistensi Bakteri S. aureus Terhadap Obat Antibiotik Ampisilin dan Tetrasiklin. Andalas Dental Journal, 3(1), 25-33.
- Sumampouw, O. J. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Escherichia coli Penyebab Diare Balita di Kota Manado. Journal of Current Pharmaceutical Sciences, 2(1), 104-110.

- Susanti, O., Yusuf, M. W., dan Elisdiana, Y. 2021. Potensi Bakteri Endofit Lamun Enhalus sp. dengan Aktivitas Antimikrofouling dari Perairan Lampung. Journal of Marine Research, 10(4), 589-594.
- Suswati, I., dan Juniarti, A. 2011. Sensitivitas Salmonella typhi Terhadap Kloramfenikol dan Seftriakson di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang Tahun 2008-2009.
- Syakur, A. 2020. Jenis-Jenis Lamun di Perairan Ponnori Kecamatan Larompong Selatan Kabupaten Luwu. Jurnal Biogenerasi, 5(1), 56-67
- Yuniar, H. F. A., Rahmawati, R., dan Rousdy, D. W. 2020. Efektivitas Antimikroba Buah Lakum (Cayratia Trifolia [L.] Domin) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* sp.(L. 10.3). Jurnal Protobiont, *9*(1).
- Zurba, N. 2018. Pengenalan Padang Lamun, Suatu Ekosistem yang Terlupakan.