

Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Simbion Lamun *Enhalus acoroides*. asal Perairan Tiwoho, Kecamatan Wori, Sulawesi Utara

(Antibacterial Activity of Symbiont Bacteria of Seagrass *Enhalus acoroides* from Tiwoho Waters, Wori District, North Sulawesi)

Ni Komang P. Purniasih¹, Elvy L. Ginting¹, Stenly Wullur¹, Remy E. P. Mangindaan¹, Natalie D. C. Rumampuk¹, Silvester B. Pratasik²

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

²Staf 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 *Enhalus acoroides*. Seagrass serves as a habitat for marine biota and is known to produce bioactive compounds. Endophytic and epiphytic 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*. 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 six isolates of symbiotic bacteria were obtained from the seagrass *Enhalus acoroides* with varied morphological characteristics. The six isolates of symbiont bacteria showed antibacterial activity and could inhibit and kill pathogenic bacteria. Two of the six isolates of symbiotic bacteria that produced the largest diameter of the inhibition zone were isolates E (Ep1) 3,5 mm and F (En3) 4 mm in *S. mutans* test bacteria.

Keywords: Antibacterial, Isolation, *Enhalus acoroides*, Symbionts, Tiwoho

Abstrak

Bakteri laut yang miskin nutrisi banyak dijumpai membentuk mekanisme hidup dengan cara berasosiasi dengan organisme laut lainnya seperti lamun *Enhalus acoroides*. Lamun berfungsi sebagai habitat biota laut dan diketahui dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Mikroba endofit dan epifit 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 enam isolat bakteri simbion yang didapatkan dari lamun *Enhalus acoroides* dengan karakteristik morfologi yang bervariasi. Keenam isolat bakteri simbion menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan dapat menghambat serta membunuh bakteri patogen. Dua dari enam isolat bakteri simbion menghasilkan diameter zona hambat terbesar adalah isolat E (Ep1) 3,5 mm dan F (En3) 4 mm pada bakteri uji *S. mutans*.

Kata kunci: Antibakteri, Isolasi, *Enhalus 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 yang 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 sedimen (*sediment trap*), penghasil oksigen, tempat tinggal biota 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 simbiosis dapat mengurangi eksploitasi berlebihan terhadap lamun. Selain itu, bakteri juga memiliki keunggulan untuk

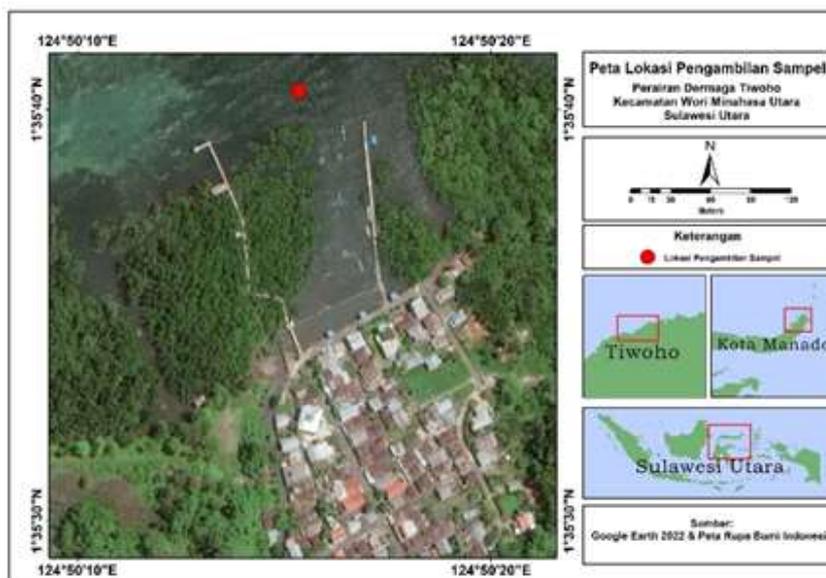
dimanfaatkan karena lebih mudah dan cepat bertumbuh serta dapat dikultur massal dengan biaya yang lebih murah. Seiring meningkatnya resistensi antibiotik dalam dunia kesehatan, diperlukan adanya kajian-kajian penemuan antibiotik baru yang dapat diperoleh dari senyawa bioaktif pada organisme laut. Penelitian 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 simbiosis 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 Laboratorium Biomolekuler 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, masing-masing berisi sebanyak 6 ml. Media disterilisasi 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 ke 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*, hasil gerusan tersebut dipindahkan sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl steril sebanyak 9 ml. Pengenceran 10^{-1} difortex sebelum dipindahkan ke pengenceran berikut. Pengenceran 10^{-1} dipindahkan sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet kemudian dilanjutkan ke tabung kedua sampai tabung ketiga sehingga konsentrasi menjadi 10^{-3} . Pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} dipindahkan ke media NA dengan menggunakan metode penyebaran (*spread plate*). Pemindahan dilakukan dengan cara mengambil 0,2 ml masing-masing pengenceran menggunakan mikropipet, kemudian disebar secara merata menggunakan *L-glass*. Media yang

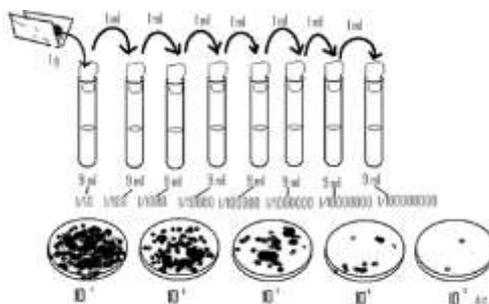
berisi bakteri diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 33°C.

Karakterisasi Morfologi Bakteri

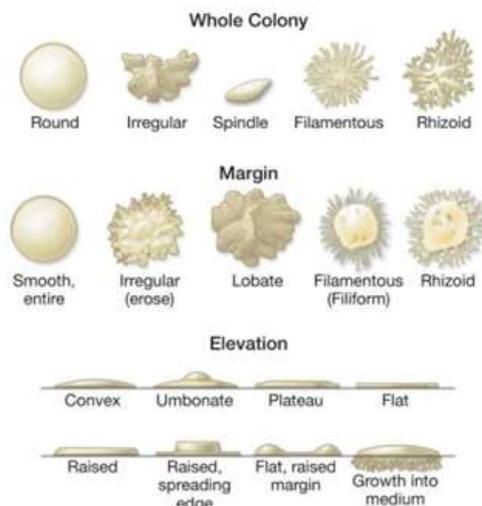
Isolat yang tumbuh diamati karakterisasi morfologinya dengan memperhatikan bentuk koloni, pinggirannya, warna, dan elevasi, yang ditentukan dengan mengacu pada Leboffe dan Pierce (2012). Bakteri yang memiliki karakteristik morfologi berbeda pada isolasi epifit dan endofit diinokulasi pada media NA. Inokulasi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

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Isolat yang tumbuh diamati karakterisasi morfologinya dengan memperhatikan bentuk koloni, pinggirannya, 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 *Amoxicillin* 500 mg, *Ampicillin* 500 mg, *Ciprofloxacin* 500 mg dan *Chloramphenicol* 250 mg sebagai pembanding zona hambat yang terbentuk. Larutan antibiotik dibuat dengan cara melarutkan 0,10 gr masing-masing antibiotik ke dalam aquades steril sebanyak 10 ml kemudian difortex hingga homogen.

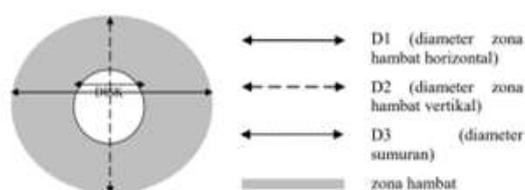
d. Pengujian Aktivitas Antibakteri

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 90 mikron, lalu *swab* menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram dicelupkan ke dalam kultur bakteri simbiosis menggunakan pinset steril, kemudian diletakkan dengan perlahan di atas permukaan media MHA yang mengandung bakteri uji. Selanjutnya perlakuan yang sama dilakukan terhadap seluruh kultur bakteri simbiosis dan antibiotik. 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 simbiosis terhadap bakteri uji. Luas zona hambat yang terbentuk pada masing-masing bakteri simbiosis 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.



$$L = \frac{(D1 - D3) + (D2 - D3)}{2}$$

$$L = \frac{(D1 - 6) + (D2 - 6)}{2}$$

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Lamun *Enhalus acoroides*

Berdasarkan hasil identifikasi sampel lamun yang diambil di Perairan Tiwoho diperoleh lamun *Enhalus acoroides*. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sampel

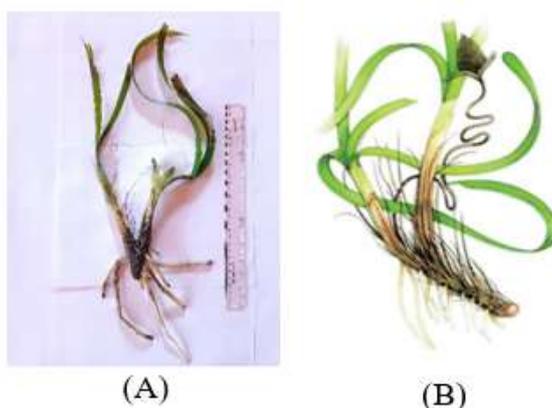
lamun yang diambil dari Perairan Tiwoho (Gambar 7A) memiliki kemiripan dengan lamun *Enhalus acoroides* (Gambar 7B) dengan ciri-ciri tumbuhan berukuran besar, daun mencapai 1 meter, dan tumbuh rambut pada rhizoma.

Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan lima isolat bakteri simbiosis endofit lamun *Enhalus acoroides* dan satu isolat bakteri simbiosis epifit lamun *Enhalus acoroides* dengan karakteristik morfologi yang berbeda dengan isolat lainnya. Karakteristik morfologi isolat bakteri simbiosis *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 berbeda. Berdasarkan perbedaan morfologi tersebut mengindikasikan bahwa keenam isolat tersebut merupakan jenis bakteri yang berbeda.

Maarisit *dkk.* (2021) melaporkan bakteri simbiosis pada lamun *T. hemprichii* dari Perairan Bahowo berhasil diisolasi. Diperoleh tiga isolat bakteri epifit dengan karakteristik morfologi yang bervariasi. Susanti dan Elisdiana (2021) juga 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 simbiosis spons dari perairan Malalyang berjumlah lima isolat. Kelima isolat bakteri yang bersimbiosis 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) Herendarudewi *dkk.* (2019)

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat bakteri simbiosis lamun *Enhalus acoroides*

Kode Isolat Bakteri Simbiosis	Karakteristik Morfologi			
	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

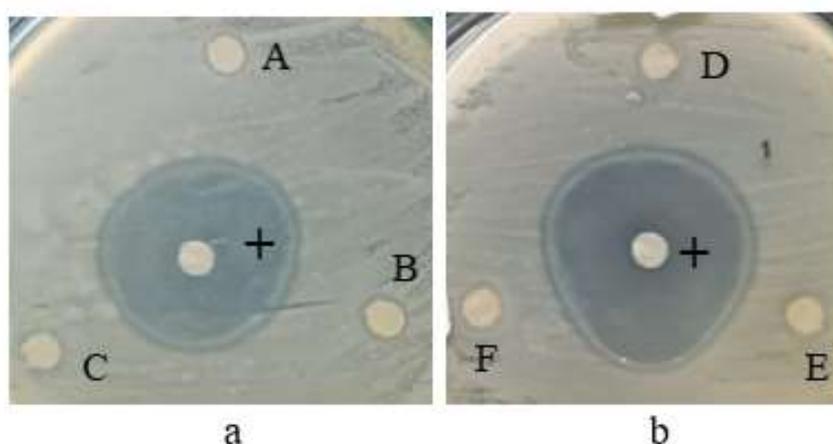
Ket : En: Endofit, Ep: Epifit

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 simbiosis *Enhalus acoroides* yang ditunjukkan pada Gambar 6.

Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri keenam isolat 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 simbiosis 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*

Kode Isolat	Waktu Inkubasi			
	Diameter Zona Hambat (mm)			Kontrol positif
	24	48	72	
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	

Berdasarkan tabel 2, diameter zona hambat yang 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 simbiosis lamun *Enhalus acoroides* pada bakteri uji

E. coli tergolong dalam kategori lemah berdasarkan Davis dan Stout (1971).

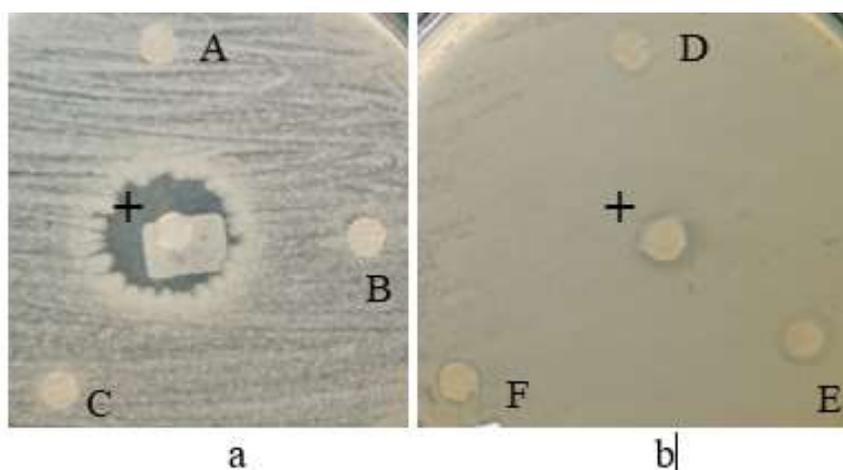
Antibiotik yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *E. coli* yaitu *Ciprofloxacin*. Penggunaan antibiotik *Ciprofloxacin* disesuaikan dengan tingkat resistensi antibiotik tersebut terhadap bakteri uji. Sumampouw (2018) melaporkan *Ciprofloxacin* resisten terhadap bakteri uji *E.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

Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Bakteri Uji *S. aureus*

Uji aktivitas isolat bakteri simbiosis 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.

Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* isolat A (En1), B (En2), dan C (En4) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan zona hambat di sekitar kertas cakram. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat A (En1), B (En2), dan C (En4) tidak memiliki 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 Isolat	Waktu Inkubasi			Kontrol positif
	24	48	72	
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	

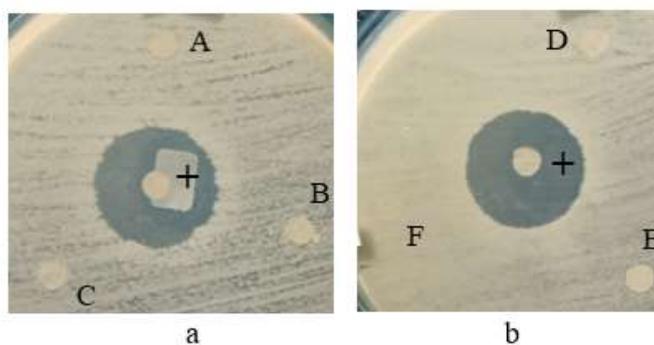
Berdasarkan Tabel 3 tidak terdapat pembentukan zona hambat pada isolat A (En1), B (En2), dan C (En4) namun pada isolat D (En5), E (Ep1), dan F (En3) terdapat zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat yang terbentuk pada isolat D (En5) yaitu 2,5 mm, isolat E (Ep1) 3 mm, dan isolat F (En3) 1,5 mm. 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 simbiosis lamun *Enhalus acoroides* pada bakteri uji *S. aureus* tergolong dalam kategori lemah berdasarkan Davis dan Stout (1971).

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 simbiosis 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.

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 patogen. Hasil pengamatan pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan pada Tabel 3.



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*

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

Kode Isolat	Waktu Inkubasi			
	Diameter Zona Hambat (mm)			Kontrol positif
	24	48	72	
A (En1)	0	0	0	16,5
B (En2)	0	0	0	
C (En4)	0	0	0	
D (En5)	0	0	0	13
E (Ep1)	3,5	3,5	3,5	
F (En3)	4	4	4	

Zona hambat yang terbentuk pada isolat E (Ep1) memiliki ukuran diameter sebesar 3,5 mm dan isolat F (En3) sebesar 4 mm, sedangkan zona hambat yang dihasilkan antibiotik sebesar 13 mm. Dalam hal ini zona hambat yang terbentuk pada isolat E (Ep1) dan F (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 zona hambat yang terbesar dalam penelitian ini.

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

Skrining aktivitas antibakteri menunjukkan enam isolat bakteri simbiosis lamun *Enhalus acoroides* rentan terhadap bakteri gram negatif seperti *E. coli* serta bakteri gram positif seperti *S. aureus* dan *S. mutans*. Berbeda dengan isolat bakteri simbiosis lamun *Enhalus 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 lemah, sedangkan zona bening menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat.

Diameter zona hambat yang dihasilkan berbeda-beda pada isolat bakteri simbiosis lamun *Enhalus acoroides* dan antibiotik disetiap bakteri uji. Hal tersebut disebabkan karena isolat bakteri simbiosis merupakan bakteri yang 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 yang dihasilkan untuk menghambat bakteri

patogen (Hamdani, 2018). Zona hambat yang dibentuk oleh senyawa aktif dari isolat bakteri simbiosis lamun dapat diklasifikasikan ke dalam kategori lemah dengan diameter <5 mm berdasarkan Davis dan Stout (1971).

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

Menurut Brooks *et al.* (2005) dan Purnamaningsih dkk. (2017), tingkat toksisitas aktivitas antibakteri dibagi menjadi 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 bersifat bakteriosidal jika dalam konsentrasi yang tinggi.

Pada penelitian ini senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat A (En1), B (En2), dan C (En4), D (En5), E (Ep1), dan F (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 simbiosis lamun *Enhalus acoroides* positif bersifat bakteriostatik dan juga bakteriosidal. Keenam isolat dengan bakteri uji *S. typhi* tidak menunjukkan sifat bakteriostatik maupun bakteriosidal. Hal tersebut dikarenakan belum adanya pertumbuhan zona hambat di sekitar kertas cakram. Dari enam isolat bakteri simbiosis lamun *Enhalus acoroides* tiga diantaranya memiliki aktivitas terbesar dengan menunjukkan zona hambat dengan

diameter yang besar disekitar kertas cakram disajikan pada Tabel 4..

Tabel 4. Diameter zona hambat terbesar

Kode Isolat	Bakteri Uji			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. mutans</i>
D (En5)	3	-	-	-
E (Ep1)	-	3	-	3,5
F (En3)	-	-	-	4

Berdasarkan data di atas, enam isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* menunjukkan adanya senyawa aktivitas antibakteri namun pada bakteri uji *S. typhi* menunjukkan bahwa senyawa yang dihasilkan isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* tidak rentan. Isolat yang menghasilkan senyawa aktivitas antibakteri terbesar dan memiliki diameter lebih besar dibandingkan isolat lainnya dari keseluruhan uji yaitu pada isolat D (En5), E (Ep1), dan F (En3).

Diameter zona hambat terbesar yaitu pada isolat D (En5) pada bakteri uji *E. coli* dengan diameter 3 mm. Pada isolat E (Ep1) dengan bakteri uji *S. aureus* memiliki diameter 3 mm dan pada bakteri uji *S. mutans* memiliki diameter 3,5 mm. Isolat F (En3) dengan bakteri uji *S. mutans* besar diameternya 4 mm. Diameter terbesar di antara tiga isolat tersebut yaitu pada isolat F (En3) dengan bakteri uji *S. mutans* yaitu 4 mm.

Berdasarkan data tersebut juga diketahui bahwa isolat bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* lebih resisten terhadap bakteri uji *S. mutans* dibandingkan dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Namun hal tersebut tidak terjadi pada bakteri uji *S. typhi* yang tidak terlihat adanya pembentukan zona hambat disekitar kertas cakram. Senyawa yang dihasilkan isolat bakteri simbion lamun tergolong lemah sehingga tidak dapat membunuh bakteri uji *S. typhi*.

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), E (Ep1), dan F (En3) dinyatakan berspektrum luas karena dapat membunuh bakteri uji *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. mutans*. Sedangkan bakteri uji *S. typhi* senyawa antibakteri isolat bakteri tidak dapat membunuh patogen disebut berspektrum sempit.

Setyoningrum (2015) melaporkan aktivitas antibakteri dari ekstrak lamun *E. acoroides* yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan adanya zona hambat yang 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 mikroba pada bakteri uji bersifat bakteriosid (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) melaporkan lamun *E. acoroides*, *C. rotundata*, dan *T. hemprichii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena mengandung senyawa bioaktif yang memiliki

kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, seperti senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid yang mampu mengganggu membrane sel bakteri.

Andhikawati dkk. (2020) juga melaporkan lamun *E. acoroides* 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 bahwa lamun *Enhalus acoroides* dapat menghasilkan senyawa antibakteri karena mengandung senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya.

KESIMPULAN

Enam isolat bakteri simbiosis 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-Bauer 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 Symbiotic 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 Semarang.
- 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. acoroides*. *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 Antimikrofoiling 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.