

KAJIAN ANTIBAKTERI DARI FUNGI ENDOSIMBION MANGROVE *Avicennia* sp. PERAIRAN LAMPUNG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

*The Antibacterial Study from Endosymbiont Fungals of Mangroves (*Avicennia* sp.) in Lampung Waters against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli**

*Oktora Susanti¹, Panji Manggala Putra¹, Afrisyahnia Putri¹

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jln. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung 35145 Indonesia

E-mail korespondensi : oktora.susanti@fp.unila.ac.id

Teregistrasi: 31 Juli 2023, Diterima: 22 Agustus 2023, Terbit: 13 Desember 2023

ABSTRAK

S. aureus dan *E. coli* adalah bakteri penyebab penyakit yang memiliki kemungkinan resisten atau kebal terhadap antibiotik. Berbagai pendekatan telah dilakukan untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru melalui pemanfaatan mikroorganisme yang bersimbiosis dengan Mangrove. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat yang memiliki bioaktivitas serta mengetahui kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Metode yang digunakan yaitu eksperimental, diawali dari sampling, isolasi dan pemurnian, uji antagonis isolat, dan pengamatan zona hambat isolat. Berdasarkan hasil yang diperoleh, terdapat 27 isolat fungi yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan 21 isolat memiliki aktivitas terhadap bakteri *E. coli*. Isolat fungi endosimbion Mangrove *Avicennia* sp. perairan Pulau Pasar digolongkan sebagai isolat dengan aktivitas zona hambat lemah hingga kuat terhadap bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*.

Kata kunci : *Avicennia* sp, *E. coli* , fungi, *S. aureus*, mangrove.

ABSTRACT

S. aureus and *E. coli* are disease-causing bacteria that may be resistant or resistant to antibiotics. Various approaches have been made to obtain new antibiotic compounds by utilizing microorganisms that are symbiotic with Mangroves. This study aims to obtain isolates that have bioactivity and to determine their inhibitory ability against *S. aureus* and *E. coli* bacteria. The method used was experimental, starting with sampling, isolation and purification, isolate antagonist test, and isolate inhibition zone observation. Based on the results obtained, there were 27 fungal isolates that had activity against *S. aureus* bacteria and 21 isolates had activity against *E. coli* bacteria. Mangrove endosymbionate fungus isolate *Avicennia* sp. in Pulau Pasaran are classified as isolates with weak to strong inhibition zone activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

Keywords : *Avicennia* sp, *E. coli*, fungi, *S. aureus*, mangrove.

PENDAHULUAN

S. aureus dan *E. coli* adalah bakteri penyebab penyakit diare di banyak negara, termasuk Indonesia yang dalam keadaan tertentu dapat membahayakan manusia dengan menimbulkan penyakit lain. Pada saat jumlah bakteri di saluran pencernaan meningkat dan bakteri keluar dari saluran pencernaan menuju ke bagian tubuh lainnya, maka keadaan ini dapat menyebabkan infeksi (Kemenkes, 2014).

Seiring dengan perkembangan zaman, timbul permasalahan baru yakni strain yang resisten atau kebal terhadap antibiotik. Perkembangan resistensi terhadap antibiotik menjadi permasalahan utama di dunia medis. Resistensi bakteri terhadap antibiotik diakibatkan oleh penggunaan antibiotik secara tidak tepat, seperti misalnya penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak sesuai, hingga penggunaan atau konsumsi yang tidak

teratur. Untuk mengatasi penyakit infeksi yang muncul akibat dari bakteri yang kebal terhadap antibiotik maka, perlu dilakukan pencarian senyawa antibiotik baru yang lebih efektif dan efisien dalam mengatasi permasalahan bakteri Multi Drug Resistant (MDR). Berbagai pendekatan telah dilakukan untuk mendapatkan senyawa antibiotik yang baru, salah satunya adalah dengan mencari senyawa bioaktif dari mikroorganisme yang bersimbiosis dengan Mangrove (Pringgenies, 2015).

Tumbuhan bakau (Mangrove) memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia, antara lain manfaat ekologi, pangan, dan obat (Liwang, 2014). Tumbuhan Mangrove telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan alami pengganti obat komersial secara turun-temurun, bahkan sejak ratusan tahun yang lalu. Beberapa ilmuwan mengatakan bioaktivitas yang terdapat dalam bagian-bagian tumbuhan bakau tidak selalu berasal dari tumbuhan bakau itu sendiri, namun dapat berasal dari organisme lain atau endosimbion (Saranya, 2015). Endosimbion yang hidup di bagian dari tumbuhan Mangrove berfungsi untuk mempertahankan eksistensi dari organisme patogen karena dapat mensintesis senyawa bioaktif seperti alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, dll yang dapat bersifat sebagai antibakteri (Dwilestari, 2015; Saranya, 2015; Qin, 2018). Potensi dari endosimbion sangatlah besar untuk dimanfaatkan oleh manusia dalam beberapa keperluan mulai dari bidang kefarmasian sebagai produsen zat antibakteri, agen pendegradasi mikroplastik, bahkan antimikrofouling (Trianto, 2019; Nursyahid, 2022; Susanti, 2021).

Wilayah tropis merupakan daerah dengan tingkat biodiversitas yang sangat tinggi. Mekanisme rantai makanan dan persaingan yang terdapat di daerah ini sangat ketat serta dapat disebabkan oleh beberapa hal, mulai dari perlawanan antara endosimbion dengan organisme patogen dan predator, keterbatasan sumber hingga tingginya tekanan seleksi alam. Hal ini memungkinkan endosimbion di daerah tropis seperti Perairan Lampung, mampu menghasilkan senyawa baru dengan aktivitas biologis yang luar biasa.

Oleh karena itu, perlu dilakukan skrining guna membuktikan bahwa potensi yang dimiliki oleh Mangrove dapat bermanfaat untuk menyelesaikan permasalahan yang ada. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat yang memiliki bioaktivitas serta mengetahui kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

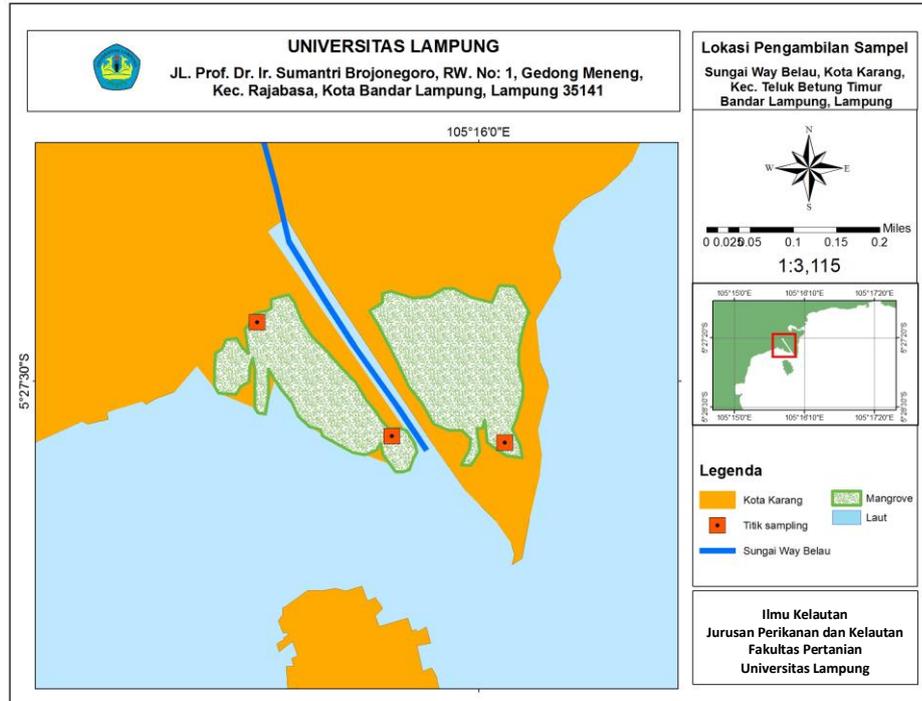
METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada 27 Juni – 10 Agustus 2020 yang bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Lokasi pengambilan sampel Mangrove berasal dari komunitas Mangrove di Pulau Pasaran, Kota Karang, Teluk Betung Timur, Lampung. Jenis Mangrove yang diambil sebagai sampel yaitu *Avicennia* sp. Penelitian yang dilakukan merupakan eksplorasi dan dilanjutkan dengan uji laboratorium secara *in-vitro*, data yang diperoleh merupakan jenis data kualitatif.

Alat dan Bahan

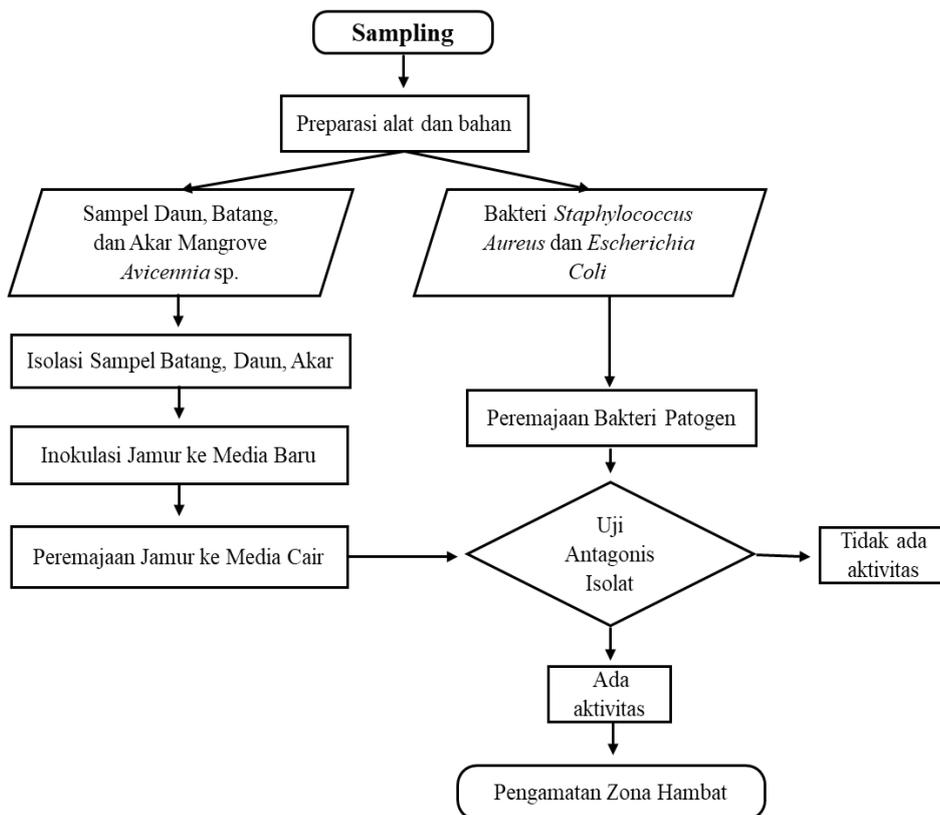
Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, jarum ose, timbangan digital, spreader, hot plate, spektrofotometer, autoklaf, bunsen, mikropipet, *yellowtip*, spatula. Bahan yang digunakan yaitu media Malt Extract Agar (MEA), media Malt Extract Broth (MEB), media Zobell, alkohol, akuades, air laut steril, *aluminium foil*, spirtus, plastik wrap, karet gelang, tisu, kertas bekas, kertas cakram, *Chloramphenicol*, *Nystatin*, bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Titik Lokasi Pengambilan Sampel



Gambar 1. Peta pengambilan sampel

Prosedur Penelitian



Gambar 2. Diagram alir prosedur penelitian

Pembuatan Media

Media yang dibutuhkan yaitu berupa media Zobell (padat), Zobell (cair), MEA (*Malt Extract Agar*) dan MEB (*Malt Extract Broth*). Semua media dibuat dengan cara mencampurkan komposisi media. MEB merupakan modifikasi dari MEA tanpa menggunakan agar dan ditambahkan air. Hal ini juga dilakukan pada pembuatan media Zobell cair. Adapun komposisi media yang digunakan yaitu sebagai berikut :

Tabel 1 Komposisi media

MEA (<i>Malt Extract Agar</i>)				
Komposisi	Satuan	100 ml	500 ml	1000 ml
Malt Extract	g	0,3	1,5	3
Yeast Extract	g	0,3	1,5	3
Peptone	g	0,5	2,5	5
Agar	g	1,5	7,5	15
Chloramfenikol 1%	mg	10	50	100
Air	ml	100	500	1000
Zobell				
Komposisi	Satuan	100 ml	500 ml	1000 ml
Peptone	g	0,25	1,25	2,5
Yeast Extract	g	0,05	0,25	0,5
Agar	g	1,5	7,5	15
Nystatin (100.000 IU)	ml	10	50	100
Air	ml	100	500	1000

Masing-masing media ditimbang menggunakan timbangan digital dengan berat takaran yang dapat disesuaikan dengan banyaknya media yang diperlukan. Media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer kemudian ditambahkan akuades atau air laut steril. Setelah itu media dihomogenkan di atas hot plate menggunakan magnetic stirrer. Setelah media homogen, media disterilisasi menggunakan autoklaf. Media yang telah siap dimasukkan ke dalam cawan petri untuk isolasi dan tabung rekasi (media miring) untuk pemurnian.

Isolasi Sampel dan Pemurnian Isolat

Isolasi dilakukan dengan cara meletakkan Sayatan melintang yang berada di dalam daun, batang, dan akar. Sampel daun, batang, dan akar Mangrove *Avicennia* sp. kemudian dibersihkan. Sampel direndam pada wadah yang berisi alkohol, dan didiamkan selama 30 detik. Perendaman dilakukan sebanyak 2 kali untuk memastikan sampel dalam keadaan steril. Selanjutnya, daun, batang, akar, disayat melintang menggunakan pisau, lalu diletakkan ke dalam cawan yang telah berisi media MEA. Bagian yang diletakkan ke dalam cawan adalah endodermis atau bagian dalam sayatan. Setelah itu, cawan diinkubasi selama 3 – 7 hari. Fungi yang telah tumbuh dimurnikan dan diberi kode sebagai penanda satu dengan yang lain.

Peremajaan Isolat dan Bakteri Uji

Isolat fungi yang telah tumbuh diremajakan ke media MEB, kemudian diinkubasi selama 3-7 hari. Bakteri uji diremajakan ke media zobell cair dan diinkubasi selama 24 jam. Proses peremajaan bakteri uji dilakukan satu hari sebelum dilakukan uji antagonis.

Uji Antagonis Isolat

Masing-masing isolat diuji antagonis dengan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan metode difusi kertas cakram. Bakteri uji disebar pada media sebanyak 100 µl menggunakan mikro pipet, kemudian kertas cakram ditetesi dengan isolat fungi sebanyak 20 µl menggunakan mikro pipet. Kertas cakram diletakkan pada media yang telah disebar bakteri uji dan diinkubasi selama 2-3 hari untuk kemudian dilakukan pengamatan.

Pengukuran Zona Hambat

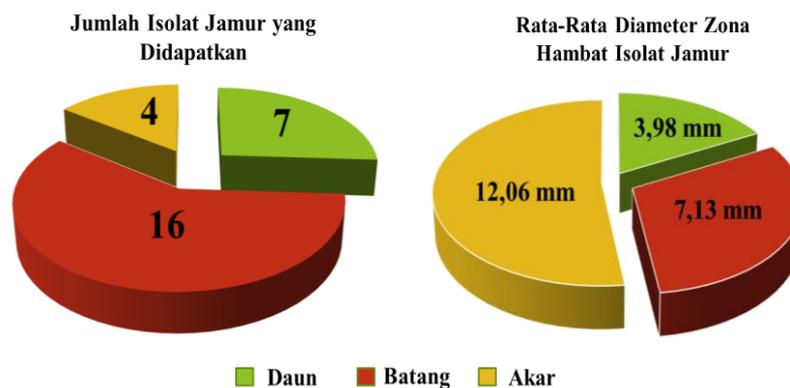
Setelah uji dilakukan dan zona hambat terbentuk, kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dicatat data hasil. Hasil uji dianalisis guna mendapatkan data klasifikasi daya hambat masing-masing isolat. Klasifikasi daya hambat berdasarkan pengkategorian Hombach (2013), yaitu sebagai berikut :

Tabel 2 Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

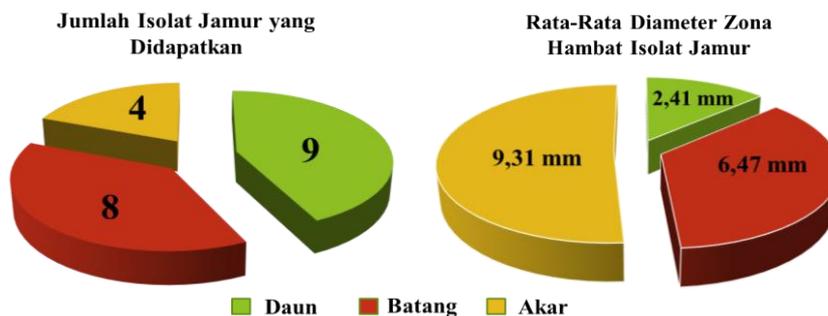
HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan pencarian isolat fungi yang memiliki potensi sebagai antibiotik terhadap bakteri *S. aureus*, ditemukan sebanyak 27 isolat fungi yang berasal dari daun, batang, dan akar *Avicennia* sp. Aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* berdasarkan rata-rata zona hambat terbesar terdapat pada isolat yang berasal dari akar dengan diameter sebesar 12,06 mm (Gambar 2).



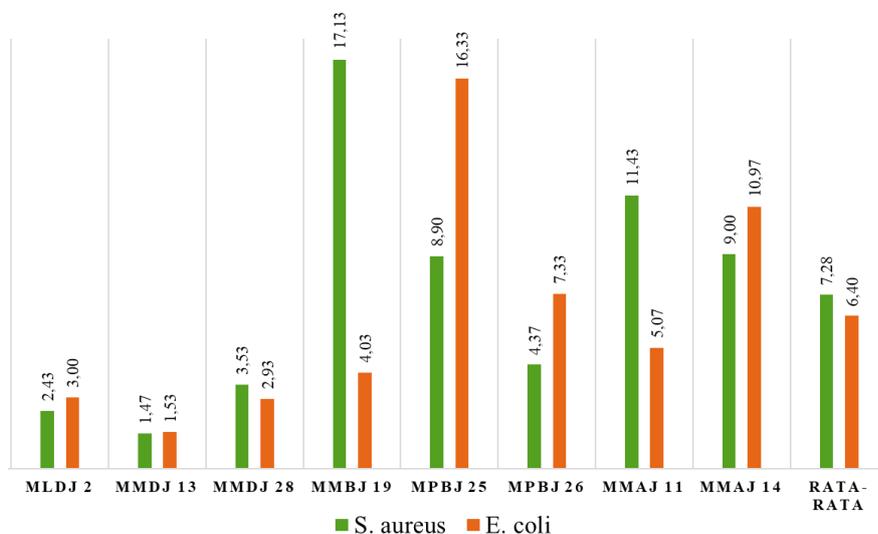
Gambar 3. Diagram alir prosedur penelitian

Pada gambar 3, ditemukan sebanyak 21 isolat fungi yang berasal dari daun, batang, dan akar *Avicennia* sp. Aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* berdasarkan rata-rata zona hambat terbesar terdapat pada isolat yang berasal dari akar dengan diameter sebesar 9,31 mm.



Gambar 4. Diagram alir prosedur penelitian

Pada gambar 4, ditemukan sebanyak 8 isolat fungi berasal dari daun, batang, dan akar *Avicennia* sp. yang memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri patogen. Terdapat isolat yang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dari rata-rata zona hambat keseluruhan isolat yaitu MMAJ 14 sebesar 9,00 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan 10,37 mm terhadap bakteri *E. coli*.



Gambar 5. Diagram alir prosedur penelitian

Hasil dari penelitian ini yaitu didapatkan zona hambat atau zona bening, dimana menunjukkan adanya aktivitas dari isolat yang diperoleh terhadap bakteri patogen. Zona hambat yang dihasilkan, membuktikan bahwa isolat fungi endosimbion Mangrove *Avicennia* sp. mampu menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat fungi endosimbion, juga mampu dihasilkan oleh hampir seluruh bagian dari tumbuhan Mangrove. Hal ini sesuai dengan Qin (2018) yang mengungkapkan, potensi tanaman sebagai bahan obat-obatan tidak hanya dari senyawa metabolit sekunder melainkan dapat juga berasal dari mikroba endosimbion yang hidup di dalam jaringan *Avicennia* sp.

Menurut Catherine (2016), mikroba endosimbion yang hidup di dalam jaringan tumbuhan, hidup dan berkembang bersama serta saling menguntungkan antara satu dengan yang lain. Mikroba endosimbion memproduksi senyawa aktif untuk melindungi jaringan

tumbuhan dari serangan penyakit, sedangkan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi mikroba endosimbion. Dari penjelasan diatas, dapat disimpulkan bahwa kemampuan daya hambat isolat endosimbion juga dipengaruhi oleh keadaan sekelilingnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rossiana *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa antibiotik yang ada pada fungi memiliki spesifikasi dalam efektifitasnya. Selain itu banyaknya metabolit sekunder yang dihasilkan akan bergantung pada penyerapan nutrient pada saat fungi endosimbion tersebut melakukan fermentasi.

Berdasarkan hasil uji isolat terhadap bakteri patogen, rata-rata diameter zona hambat paling besar ialah berasal dari bagian Akar Mangrove terhadap bakteri uji *S. aureus* yakni sebesar 12,02 mm. Rata-rata diameter zona hambat paling besar ialah berasal dari bagian Akar Mangrove terhadap bakteri uji *E. coli* yakni sebesar 9,31 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat fungi lebih sensitif terhadap bakteri Gram Positif.

Hal ini dimungkinkan terjadi karena isolat fungi yang berasal dari akar mendapatkan nutrisi yang cukup jika dibandingkan dengan isolat fungi yang berasal dari daun maupun batang. Isolat fungi endosimbion Mangrove *Avicennia* sp. Pulau Pasaran dikategorikan sebagai isolat dengan bioaktivitas lemah hingga kuat. Hal ini sesuai dengan pengklasifikasian bioaktivitas isolat oleh Hombach (2013).

Isolat yang memiliki potensi dijadikan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* adalah MMBJ 19 dengan besar zona hambat sebesar 17,13 mm. Selain itu, isolat yang memiliki potensi dijadikan sebagai antibakteri terhadap *E. coli* adalah MPBJ 25 dengan besar zona hambat sebesar 16,33 mm. Kedua isolat ini dikelompokkan sebagai isolat dengan daya hambat kuat menurut Hombach (2013).

Dari semua isolat yang memiliki aktivitas, terdapat 1(satu) isolat yang paling berpotensi dijadikan sebagai antibakteri yaitu MMAJ 14. Hal ini dimungkinkan karena isolat ini memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat berturut-turut sebesar 9,00 mm dan 10,97 mm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat 27 isolat fungi yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan 21 isolat memiliki aktivitas terhadap bakteri *E. coli*. Isolat fungi endosimbion Mangrove *Avicennia* sp. Pulau Pasar digolongkan sebagai isolat dengan aktivitas zona hambat lemah hingga kuat terhadap bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah banyak membantu, dan berkontribusi baik langsung maupun tak langsung sehingga penelitian ini dapat terselesaikan. Terima kasih banyak juga penulis ucapkan kepada pihak yang membantu menanggung sebagian dana penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Catherine, G., Mélanie, T., Solange, M., Yves, D., & Denis, F. (2016). Quorum Quenching: Role in Nature and Applied Developments. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(1), 86–116. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038>.

- Dwilestari., Awaloei, H., Posangi, J., & Bara, R. (2015). Uji Efek Antibakteri Fungi Endofit Pada Daun Mangrove *Sonneratia Alba* terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 3(1), 394-398. <https://doi.org/10.35790/ebm.v3i1.7414>.
- Hombach, M., Zbinden, R., Böttger, E. C. (2013). Standardisation of Disk Diffusion Results for Antibiotic Susceptibility Testing Using the Sirscan Automated Zone Reader. *BMC Microbiol*, 13:225. doi: 10.1186/1471-2180-13-225.
- Kemendes RI (2014). Diare. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*, 5(1), 1-3.
- Liwang, F., Bara, R., Awaloei, H., & Wuisan. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endosimbion Akar Bakau *Avicennia marina* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmakologi*, 2(1), 1-7. <https://doi.org/10.35790/ebm.v2i1.3750>.
- Nursyahid, M. B. M., Vanbudi, A., Meilawati, S., Prasetyo, I. A., Susanti, O. (2022) Agen Pendegradasi Mikroplastik Dari Mikroba Endofit Mangrove *Avicennia marina*. *Journal of Marine Research*, 11(4), 779-784. <https://doi.org/10.14710/jmr.v11i4.35487>.
- Pringgenies, D., Jumiati, M., & Ridho, A. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Nudibranch Polka-Dot (*Jorunna funebris*)(Gastropoda: Moluska) terhadap Bakteri *Multidrug Resistant* (MDR). *Indonesian Journal of Marine Sciences/Ilmu Kelautan*, 20(4), 195-206. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.195-206>.
- Qin, D., Gang, L., Mengyu, S., Xiaobo, Y., & Jing, X. (2018). A New Antimicrobial Sesquiterpene Isolated from Endophytic fungus *Cytospora* sp. from the Chinese Mangrove Plant *Ceriops tagal*. *Natural Product Research*, 34(10), 1404-1408. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1512993>.
- Rossiana, N., Miranti, M., Rahmawati, R., Setyobudi, R. H., Nuringtyas, T. R., & Adinurani, P. G. (2016). Antibacterial Activities of Endophytic Fungi from Mangrove Plants *Rhizophora apiculata* L. and *Bruguiera gymnorrhiza* (L.) Lamk. on *Salmonella typhi*. *AIP Conference Proceedings*, 1744(1), 1-6. <https://doi.org/10.1063/1.4953514>.
- Saranya, A., Ramanathan, T., Kesavanarayanan, K. S., & Adam, A. (2015). Traditional Medicinal Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of a Mangrove Plant. *Acanthus Ilicifolius* Linn. A brief review. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 15(2), 243-250. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2015.15.2.12529>.
- Susanti, O., Yusuf, M. W., & Elisdiana, Y. (2021). Potensi Bakteri Endofit Lamun *Enhalus* sp. dengan Aktivitas Antimikrofooling dari Perairan Lampung. *Journal of Marine Research*, 10(4), 589-594. <https://doi.org/10.14710/jmr.v10i4.32286>.
- Trianto, A., Nirwani., Susanti, O., Maesaroh, D., & Radjasa, O. K. (2019). The Bioactivity of Bacterium and Fungi Living Associate with the Sponge *Reniera* sp. against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(8), 2302-2307. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200827>.