

Uji Pendahuluan Aktivitas Produk Biotransformasi Daun Mangrove *Avicennia marina* Dengan Isolat Jamur Terhadap Bakteri Patogen *Klebsiella pneumonia* dan *Enterobacter aerogenes*

Humairah Arifia Sabiladiyini*, Agus Trianto, Ali Djunaedi

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl.Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author, e-mail: humairahsbdlyni@gmail.com

ABSTRAK : Penyebaran bakteri patogen *Klebsiella pneumonia* dan *Enterobacter aerogenes* di Indonesia pada tahun 2013 diketahui mencapai 67,81%. Sumber antibiotik berasal dari bahan kimia juga dari alam, salah satunya berasal dari jenis mangrove *A. marina* yang mengandung senyawa flavonoid, steroid, fenol, dan tannin. Ekstrak daun *A. marina* kurang efektif sehingga perlu dilakukan proses biotransformasi dengan harapan akan terbentuk senyawa baru yang lebih berpotensi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak jamur dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan penambahan daun mangrove pada media jamur akan mengubah senyawa yang terkandung pada ekstrak daun mangrove. Sampel daun mangrove *Avicennia marina* diambil di Desa Tugurejo, Semarang dan isolat jamur yang digunakan adalah *Fusarium incarnatum*, isolat C₁₂ dan C₁₄. Bakteri patogen yang akan diuji adalah bakteri patogen *Klebsiella pneumonia* dan *Enterobacter aerogenes*. Kultur jamur dilakukan dengan menambahkan 200 gr dan 400 gr daun mangrove dalam 1000 ml air laut sebagai campuran media. Aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Ekstraksi daun mangrove dan jamur simbiosis dengan pelarut metanol. Hasil ekstraksi kemudian diuji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 250 µg/disk, 500 µg/disk, dan 1000 µg/disk. Deteksi kelas senyawa antibakteri menggunakan KLT. Visualisasi dengan sinar UV dan reagen vanillin asam sulfat. Ekstrak C₁₄ dengan media daun mangrove 400 gr menunjukkan zona hambat terbesar 12,3 mm pada konsentrasi 500 µg/disk terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes* dan termasuk golongan kuat. Hasil KLT menunjukkan ekstrak jamur C₁₄ memiliki kandungan yang hampir sama dengan ekstrak mangrove, tetapi setelah disemprotkan vanillin asam sulfat terdapat senyawa lain yang berbeda dari ekstrak daun mangrove.

Kata Kunci : Mangrove, Bakteri Patogen, Antibakteri, Senyawa Bioaktif

Preliminary Test of Avicennia marina Mangrove Leaves Biotransformation Product Activity with Fungi Isolates on Pathogenic Bacteria Klebsiella pneumonia and Enterobacter aerogenes

ABSTRACT : The emerge of pathogenic bacteria *Klebsiella pneumonia* and *Enterobacter aerogenes* in Indonesia are now reached 67,81% in 2013. One of the natural source is mangrove *A. marina* that contained bioactive compound such as flavonoid, steroid, fenol, and tannin. Mangrove leaves extract is often not effective, so biotransformation process is necessary to change the previous substrate become the new potential compound. The aims of this research to know whether fungal extract can inhibit the bacterial growth and the addition of mangrove leaves on fungal media will change a compound contained on mangrove leaves extract. Mangrove leaves are collected from Desa Tugurejo, Semarang and fungal isolation using *Fusarium incarnatum*, C₁₂ and C₁₄. *K. pneumonia* and *E. aerogenes* were the pathogenic bacteria assayed. The addition of mangrove leaves around 200 gr and 400 gr for fungi culture. Antibacterial activity by agar diffusion method. Extraction of mangrove leaves and fungal symbiont were attached with methanol solvent. Then, this crude extract were assayed for antibacterial activity by the consecutive extract concentrations of 250, 500, and 1000 µg/disk. Detection of class antibacterial compound was carried out using TLC method and visualization with UV light and vanillin sulfuric acid. The largest

antibacterial activity in extract C₁₄ about 12,3 mm with concentration 500 µg/disk that inhibits Enterobacter aerogenes and belong to strong group. The results of TLC showed that extract C₁₄ have almost the same compound with mangrove leaves extract, but after sprayed with vanillin sulfuric acid, there are several compound which different with mangrove leaves extract.

Keywords: Mangrove, Pathogenic bacterial, Antibacterial, Bioactive compound

PENDAHULUAN

Bakteri yang merupakan organisme bersel tunggal sering menginfeksi manusia melalui saluran pernafasan sebagai jalan utama bakteri memasuki tubuh (Brooks, 2005). Infeksi bakteri pada saluran nafas sering menimbulkan gejala batuk yang dapat berlangsung lebih dari 8 minggu, yang disebut batuk kronis. Penyebab batuk kronis ini sering disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter* spp. Penderita yang terkena infeksi bakteri membutuhkan antibiotik untuk mengatasi infeksi yang lebih parah. Sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat untuk penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik. Pada penelitian diberbagai rumah sakit ditemukan sebanyak 30% - 80% penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi (Nurmala *et al.*, 2015).

Klebsiella pneumoniae dan *Enterobacter aerogenes* merupakan spesies bakteri dengan bentuk basil gram negatif yang memiliki kemampuan memproduksi enzim β -lactamase yang menghidrolisis cincin β -lactam *cephalosporin*, *penicillin* dan *aztreonam* juga disebut sebagai bakteri Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). Resistensinya terhadap antibiotik β -lactam, chloramphenicol, quinolones dan tetracyclines juga telah dilakukan penelitian (Thiolas *et al.*, 2005). Banyak penelitian menunjukkan adanya peningkatan resistensi dari genus *Enterobacter* terhadap penicillin dan turunan cephalosporins (Mordi dan Hugbo, 2011).

Penggunaan antibakteri alami bisa menjadi salah satu alternatif pengganti penggunaan antibiotik. Namun, penggunaan antibakteri alami masih terbatas informasi baik jenis maupun efektifitas dan cara penggunaannya yang belum luas. Pemanfaatan bahan-bahan dari alam, yang salah satunya diketahui mengandung senyawa antibakteri adalah tumbuhan mangrove yang mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, steroid, fenol, dan tannin (Mulyani *et al.*, 2013). Senyawa tersebut terdapat pada mangrove *Avicennia marina* yang dimanfaatkan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam gangguan biologis seperti sebagai antioksidan, antitumor, antiinflamatori, antialergi, antiaging, antikonvulsan, antiarterosklerotik dan antituberkulosis (Prabhu *et al.*, 2012). Menurut Amirkaveei *et al.* (2011) ekstrak tanaman ini lebih efektif digunakan sebagai anti bakteri dibandingkan anti jamur.

Penggunaan ekstrak murni pada uji antibakteri terkadang tidak efektif, sehingga dilakukan proses biotransformasi dengan mikroorganisme yaitu fungi agar didapatkan senyawa antibakteri baru yang lebih berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Biotransformasi adalah perubahan suatu senyawa menjadi senyawa turunannya yang strukturnya berbeda dari senyawa asalnya akibat aktivitas metabolisme suatu mikroorganisme (Lu *et al.*, 2000). Biotransformasi dipilih karena reaksinya bersifat enzimatis sehingga reaksi biotransformasi selektif dan sangat spesifik dalam mengubah substrat yang ada. Apabila ada beberapa gugus fungsi maka hanya posisi spesifik tertentu yang dipengaruhi. Reaksi biotransformasi dapat digunakan untuk menyerang gugus fungsi yang tidak dapat diaktifkan secara efisien atau memerlukan beberapa tahap antara sebelum dapat bereaksi secara kimia (Dewi, 2011). Sehingga dengan bantuan fungi dan proses biotransformasi dapat dihasilkan senyawa lain atau senyawa baru yang berkemungkinan mempunyai potensi yang berbeda dari senyawa awalnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun *Avicennia marina* segar dan hasil biotransformasi sebagai bahan antibakteri alami terhadap penyakit bakteri patogen dan perbedaan kandungan senyawa pada ekstrak daun mangrove segar dan hasil biotransformasi.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *A. marina* yang diambil di Desa Tugurejo, Semarang. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri patogen *K. pneumonia* dan *E. aerogenes* yang diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Laut Tropis, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang. Jamur yang digunakan dalam proses biotransformasi adalah jamur *Fusarium incarnatum*, isolat jamur dengan kode C₁₂, dan C₁₄ yang sudah diisolasi dan dikultur dari spons di perairan Kupang yang merupakan koleksi Laboratorium Natural Produk.

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode eksperimental laboratorium, yaitu suatu penelitian yang dimaksudkan untuk menyelidiki kemungkinan sebab akibat dengan cara mengenalkan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental dan satu atau lebih kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 2003). Pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sample* yaitu suatu metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan mengambil subyek berdasarkan kriteria spesifik yang sudah ditetapkan (Sugiyono, 2012). Data didapat dengan melakukan pengamatan dan pencatatan secara langsung dan sistematis terhadap kejadian-kejadian dari objek yang diteliti.

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Desa Tugurejo, Semarang dengan titik koordinat S 06° 57' 59.0" dan E 110° 20' 47,7". Sampel yang sudah diambil dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian dibagi menjadi dua bagian untuk ekstraksi dan pembuatan media modifikasi jamur.

Sterilisasi bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang murni dan tidak terkontaminasi. Alat-alat yang terbuat dari kaca setelah dicuci kemudian dibungkus dengan kertas dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit dan tekanan 1,5 atm. Sedangkan untuk media disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit dan tekanan 1 atm. Sterilisasi cawan petri dilakukan dengan metode sterilisasi kering menggunakan oven selama 2 - 3 menit pada suhu 169 °C. Sedangkan untuk menghindari kontaminasi pada area kerja, distrerilisasi dengan menyemprotkan desinfektan seperti alkohol 70% di sekitar area kerja (Bukorpioper, 2015).

Pembuatan media

Media yang digunakan untuk isolasi, kultur, penyimpanan isolat murni dan pengujian senyawa antibakteri adalah *Zobell* 2216E dengan komposisi pepton, *yeast*, serta agar. *Zobell* merupakan media agar non selektif. Masing-masing bahan ditimbang sesuai kebutuhan kemudian dicampurkan kedalam aquadest, dipanaskan dan diaduk sampai homogen selanjutnya disterilisasi. Media yang digunakan untuk kultur jamur yaitu dengan komposisi *Malt Extract Broth* (MEB) dan daun mangrove seberat 200 gr dan 400 gr dan dilarutkan kedalam air laut steril (Bukorpioper, 2015).

Isolasi jamur

Inokulasi jamur *Fusarium incarnatum*, isolat C₁₂, dan isolat C₁₄, dimulai dengan membuat media yang dibutuhkan yaitu MEA, MEB, dan media modifikasi agar juga cair. Jamur yang sudah dikultur di MEA diambil kemudian dipindahkan ke media modifikasi mangrove agar dan cair. Kemudian diinkubasi selama kurang lebih 2 minggu, miselium siap dipanen. Miselium jamur yang sudah terbentuk disaring dan direndam dengan pelarut metanol untuk didapatkan ekstraknya.

Ekstraksi Jamur dan daun mangrove

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi 1 x 24 jam pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut metanol. Jamur yang sudah di kultur selama kurang lebih 2 minggu kemudian dipanen dengan cara mengambil miseliumnya. Setelah di panen, jamur ditimbang terlebih dahulu untuk diketahui berat basahanya, kemudian ditambahkan pelarut metanol untuk proses perendaman. Setelah dilakukan perendaman 1 x 24 jam, kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas whattman dan kapas agar tidak ada miselium yang terbawa. Hasil penyaringan kemudian diuapkan secara vakum dengan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C – 55°C dan

tekanan 200 mbar. Ekstrak miselium kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dilakukan penimbangan agar diketahui berat keringnya. Ekstrak yang didapat, dilakukan uji aktivitas antibakteri MDR (Bukorpioper, 2015).

Mangrove yang akan diekstrak dicacah halus. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 2 x 24 jam pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 100 gram sampel direndam 300 mL pelarut hingga sampel terendam dalam toples. Ekstraksi dilakukan selama 2 x 24 jam dan diulang sebanyak dua kali. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring whatman terlebih dahulu sebelum dimaserasi kembali dengan pelarut metanol. Setelah selesai proses ekstraksi, pelarut organik diuapkan secara vakum dengan menggunakan rotavapor pada suhu 40 °C – 55 °C dan tekanan 200 mbar. Ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diketahui beratnya, selanjutnya ekstrak ditimbang beratnya dan disimpan di freezer (-20 °C) sampai akan digunakan untuk pengujian (Melki, 2010).

Uji aktivitas ekstrak jamur simbiosis dan ekstrak daun mangrove terhadap bakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Difusi Lempeng Agar (*Agar Disk-Diffusion Assay*) menurut Kirby Bauer. Konsentrasi yang digunakan dalam uji adalah 250 µg/disk, 500 µg/disk, dan 1000 µg/disk (Purwantoro, 2011). Kepadatan bakteri yang digunakan ditentukan dengan menggunakan metode McFarland sebesar 10^7 sel bakteri. Uji kualitatif yaitu jika terdapat zona hambat pada sekitar *paper disc*. Sedangkan uji kuantitatif dengan mengukur besarnya diameter zona hambat yang terbentuk (Sibero *et al.*, 2016).

Kromatografi Lapis tipis

Uji KLT menggunakan plat aluminium GF254 (E-merck) dengan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksana (PA) : etil asetat (PA) dengan perbandingan 7 : 3. Pelat KLT dipotong dengan ukuran 4 x 5,5 cm kemudian dibuat garis pada jarak 0,5 cm dari atas pelat dan 1 cm dari bawah pelat sebagai garis awal dan garis akhir. Ekstrak yang sudah didapatkan kemudian dilarutkan dengan etil asetat PA secukupnya jangan terlalu pekat atau terlalu encer. Setelah ekstrak dan pelarut sudah homogen, ekstrak diambil dengan pipa kapiler dan di tempelkan pada pelat silika. Pelat silika yang sudah terdapat spot ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam wadah berisi eluen fase gerak dengan perbandingan yang sudah ditentukan sambil dihitung waktu sampai eluen mencapai tanda batas. Spot-spot yang terbentuk pada plat KLT diamati di bawah sinar UV dan diberikan tanda spot yang terbentuk. Selanjutnya plat KLT disemprot menggunakan larutan vanillin asam sulfat dan dipanaskan untuk visualisasi spot yang tidak terlihat dibawah sinar UV. Spot-spot yang terbentuk dihitung nilai Rf-nya dengan rumus dibawah ini menurut Hidayati, 2012.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan morfologi pada sampel yang didapat yaitu, pohon mangrove ini memiliki akar pneumatofora atau akar nafas tegak. Permukaan daun berwarna hijau tua dan memiliki bintik-bintik, sedangkan pada bagian bawahnya berwarna putih – abu-abu muda. Bentuk daun bulat memanjang dengan ujung daun meruncing hingga membundar dan setiap daun terletak berlawanan. Bunga berwarna kuning-jingga pucat dengan bau menyengat dan bergerombol. Buah berbentuk bulat dengan sedikit berambut halus. Ciri-ciri morfologi dari sampel mangrove ini sesuai dengan ciri-ciri morfologi mangrove *A. marina* menurut Noor *et al.*, 2006.

Jamur simbiosis yang dikultur massal adalah isolat *Fusarium incarnatum*, isolat jamur dengan kode C₁₂, C₁₄ karena isolat ini saja yang aktif di kedua bakteri uji pada penelitian sebelumnya (Bukorpioper, 2015). Kemudian dilakukan kultur massal untuk memperbanyak jamur dengan menambahkan rebusan air daun mangrove *Avicennia marina* pada media pertumbuhan jamur. Hasil kultur massal jamur simbiosis kemudian diekstrak menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, hasil maserasi kemudian dilakukan evaporasi (penguapan) menggunakan alat *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak kasar (*crude extract*). Data hasil ekstraksi dari isolat jamur *Fusarium incarnatum*, C₁₂, dan C₁₄ disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Ekstraksi yang dilakukan adalah dengan metode maserasi, proses maserasi dilakukan dengan cara merendam jamur yang sudah dikultur massal dengan menggunakan pelarut metanol.

Proses ini merupakan proses yang paling mudah dilakukan, selain itu maserasi tidak merusak potensi atau komposisi kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada jaringan sampel. Pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam. Pelarut ini memiliki tingkat polaritas yang tinggi, titik didih yang rendah yaitu 65°C dan mempunyai harga yang relatif murah dan mudah dijangkau (Susanti, 2012).

Setelah didapatkan filtrat hasil maserasi kemudian dilakukan teknik evaporasi atau penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator*, penggunaan *rotary evaporator* bertujuan untuk menguapkan pelarut dan memperoleh senyawa hasil ekstraksi yang diinginkan. Hasil dari proses ini adalah mendapat ekstrak kasar dari pelarut yang berbentuk pasta dan memiliki warna kekuningan pada ekstrak.

Berat ekstrak *F. incarnatum* yang didapatkan dari 350 ml pelarut metanol sebesar 158,1gr ekstrak kasar jamur Sedangkan rendemen yang didapat sebesar 0,05% yang artinya kelarutan senyawa yang terlarut pada pelarut sebesar 0,05%. Namun, pada jamur C₁₄ dan C₁₂, pelarut metanol tidak menghasilkan ekstrak kasar pada saat proses evaporasi. Hal ini disebabkan karena pelarut metanol bersifat polar dan dapat mengikat air, diduga hasil evaporasi tersebut adalah air, sehingga harus dilakukan pemisahan dengan corong pemisah dan penambahan etil asetat. Ekstrak kasar yang didapat dari pelarut etil asetat sebesar 30 mg pada jamur C₁₄, dan 20 mg pada jamur C₁₂. Sedangkan rendemen yang didapat adalah 0,04% dan 0,1% (Tabel 1).

Tabel 1. Berat Ekstrak Kasar dari Isolat *F. incarnatum*, C₁₄, dan C₁₂

	Daun Mangrove <i>A. marina</i>	<i>Fusarium incarnatum</i>	C ₁₄	C ₁₂
Media		A	A	A
Pengulangan				
Fase stasioner (hari)		10	10	10
Berat basah (gr)	100	148	84	19.3
Volume Filtrat (ml)	600	350	400	200
Berat Ekstrak fraksi Metanol (mg)	1250	77.6	0	0
Berat Ekstrak fraksi E.A (mg)	780	158.1	30	20
Rendemen Ekstrak fraksi methanol (%)	1.25	0.05	0	0
Rendemen ekstrak fraksi E.A (%)	0.78	0.1	0.04	0.1

Tabel 2. Berat Ekstrak Kasar C₁₄ untuk dilakukan KLT

	C ₁₄								
Media	A			B			C		
Pengulangan	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Fase stasioner (hari)		21			21			21	
Berat basah (gr)	2	3	1	5	4	3	11	17	6
Volume Filtrat (ml)	27	30	20	50	30	30	30	40	30
Berat Ekstrak fraksi Metanol (mg)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Berat Ekstrak fraksi E.A (mg)	1.23	1.26	2.84	1.76	1.6	1.53	3.16	3.2	1.57
Rendemen Ekstrak fraksi methanol (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Rendemen ekstrak fraksi E.A (%)	0,62	0,42	2,84	0,35	0,4	0,51	0,28	1,3	0,26
---------------------------------	------	------	------	------	-----	------	------	-----	------

Keterangan: A = MEB + 200 gr daun mangrove; B = MEB + 400 gr daun mangrove; C = MEB

Uji Aktivitas bakteri

Ekstrak kasar yang sudah didapatkan kemudian dilakukan uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Masing-masing ekstrak diuji dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 250 µg/disk dan 500 µg/disk dengan menggunakan 2 bakteri uji *Klebsiella pneumonia* dan *Enterobacter aerogenes*. Kemudian dilakukan uji KLT. Data hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar sebelum dilakukan uji KLT disajikan pada Tabel 3 dan 4. Setelah didapatkan hasil dari uji difusi, dilakukan uji KLT dengan memilih ekstrak jamur yang memberikan hasil terbaik dalam menghasilkan zona hambat. Setelah dilakukan uji KLT, uji difusi dilakukan kembali dengan 3 konsentrasi berbeda yaitu 250 µg/disk, 500 µg/disk, dan 1000 µg/disk pada isolat jamur C₁₄. Data hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar jamur C₁₄ setelah dilakukan uji KLT disajikan pada Tabel 5. Setelah didapatkan ekstrak pada masing-masing jamur, kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri. Ekstrak daun mangrove menunjukkan zona hambat yang kecil pada kedua konsentrasi dan kedua bakteri uji. Ekstrak kasar dari isolat *F. incarnatum* memiliki zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak 250 µg/disk dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumonia* strain MDR sebesar 6,3 mm (Tabel 3), sedangkan dalam menghambat bakteri *Enterobacter aerogenes* strain MDR sebesar 0,83 mm. Ekstrak jamur C₁₂ tidak dapat menghambat bakteri *K. pneumonia* ditunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk pada kedua konsentrasi uji. Pada bakteri *E. aerogenes*, kedua konsentrasi menunjukkan besar zona hambat yang sama yaitu 1,4 mm (Tabel 4).

Tabel 3. Besar zona hambat yang terbentuk dari uji ekstrak kasar jamur simbion terhadap bakteri *K. pneumonia*

Isolat	<i>K. pneumonia</i> (mm) / Konsentrasi (µg/disk)		Kontrol positif
	250	500	
<i>F. incarnatum</i>	6,3 ± 0,69	4,53 ± 0,83	4,83 ± 0,70
C ₁₄	3,23 ± 2,31	0,87 ± 0,06	18,0 ± 0,26
C ₁₂	0	0	0
Daun Mangrove	1,9 ± 0,00	1,17 ± 0,46	

Tabel 4. Besar zona hambat yang terbentuk dari uji ekstrak kasar jamur simbion terhadap bakteri *E. aerogenes*

Isolat	<i>E. aerogenes</i> (mm)/ Konsentrasi (µg/disk)		Kontrol positif
	250	500	
<i>F. incarnatum</i>	0,83 ± 0,31	0	26,43 ± 1,15
C ₁₄	1,37 ± 0,78	4,10 ± 0,69	8,1 ± 0,56
C ₁₂	1,4 ± 0,69	1,4 ± 0,50	0
Daun Mangrove	1,47 ± 0,58	1,27 ± ,71	

Tabel 5. Besar zona hambat yang terbentuk dari uji ekstrak kasar jamur simbion C14 terhadap bakteri *E. aerogenes* setelah pengujian KLT

C14	<i>E. aerogenes</i> (mm)/ Konsentrasi (µg/disk)			Kontrol positif
	250	500	1000	

A	1,4 ± 7,8	4,1 ± 6,9	0	8,1 ± 5,6
B	8,7 ± 7,02	12,3 ± 0,05	8,5 ± 2,95	8,1 ± 5,6
C	3,4 ± 0,54	9,97 ± 6,41	4,48 ± 1,30	8,1 ± 5,6

Keterangan : A = media mangrove 200 gr; B = media mangrove 400 gr; C= media MEB

Pada ekstrak kasar jamur C₁₄, zona hambat terbentuk disetiap konsentrasinya, sehingga dilakukan uji KLT. Setelah dilakukan uji KLT, isolat jamur dilakukan uji difusi dengan 3 konsentrasi yang berbeda sehingga akan terlihat perbedaan zona hambat yang terbentuk dan konsentrasi terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat terbesar yaitu pada isolat jamur yang ditanam dengan penambahan daun mangrove sebesar 400 gr. Pada ketiga konsentrasi yang berbeda menunjukkan angka yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak lainnya (tabel 5). Zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 500 µg/disk dalam menghambat bakteri *E. aerogenes* sebesar 12,3 mm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *E. aerogenes* sudah dapat dihambat perumbuhannya pada konsentrasi 500 µg/disk, dan kurang efektif pada konsentrasi 250 dan 1000 µg/disk. Pada pengujian ekstrak terhadap bakteri *K. pneumonia* zona hambat hanya terbentuk pada isolat jamur dengan media mangrove 200 gr sebesar 0,87 pada konsentrasi 500 µg/disk (Tabel 3).

Zona hambat rata-rata yang terbentuk dari konsentrasi 250 µg/disk, 500 µg/disk, dan 1000 µg/disk pada semua ekstrak uji, menunjukkan 0,8 - 12 mm yang berarti memiliki aktivitas antibakteri yang lemah - kuat. Hasil penggolongan ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Davidstrout (1971) dalam Melki (2010), bahwa ketentuan antibiotik/antibakteri adalah zona hambat >20 mm berarti sangat kuat, zona hambat 10 – 20 mm termasuk kuat, zona hambat 5 – 10 mm berarti sedang, dan zona hambat lemah berkisar <5 mm. Dengan nilai zona hambat yang didapat, senyawa bioaktif yang terdapat pada setiap ekstrak termasuk kedalam golongan lemah – sedang, sedangkan ekstrak C₁₄ dengan media daun mangrove 400 gr merupakan ekstrak yang menunjukkan zona hambat terbesar dibandingkan dengan ekstrak daun mangrove dan isolat jamur lain, sehingga masuk kedalam golongan kuat.

Kromatografi Lapis Tipis

Pada Uji Kromatografi Lapis Tipis, jamur yang digunakan adalah isolat jamur C₁₄, karena pada uji aktivitas antibakteri, ekstrak kasar isolat jamur C₁₄ terdapat zona hambat pada setiap konsentrasi terhadap kedua bakteri uji. Jamur C₁₄ kemudian dilakukan kultur masal dengan 3 kali pengulangan, dengan media MEB, media MEB + *A. marina* 200 gr dan media MEB + *A. marina* 400 gr kemudian dilakukan proses evaporasi. Ekstrak kasar yang didapat kemudian dilakukan pengujian Kromatografi Lapis Tipis. Data hasil Kromatografi Lapis tipis dibawah sinar UV disajikan pada Tabel 6.

Setelah dilakukan visualisai di bawah sinar UV, plat silika disemprotkan larutan vanillin asam sulfat kemudian dipanaskan diatas *horplate* untuk mengetahui senyawa lain yang tidak dapat terbaca di bawah sinar UV. Data hasil Kromatografi Lapis Tipis setelah disemprotkan vanillin asam sulfat pada Tabel 7.

Tabel 6. Ekstrak jamur C₁₄ dan Ekstrak mangrove dibawah sinar UV

Titik Uji	Jumlah Noda	Warna	Rf
I	2	Hijau	0.7
		Biru	0.775
II	2	Hijau	0.7
		Biru	0.775
III	3	Hijau	0.7
		Biru	0.775
		Biru Muda	0.85
M	4	Pink	0.1
		Pink	0.15

Jingga	0.25
Jingga	0.35

Keterangan: I = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media mangrove 400 gr; II = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media mangrove 200 gr; III = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media MEB; IV = Spot ekstrak daun mangrove *A. marina*

Tabel 7. Ekstrak jamur C_{14} dan Ekstrak mangrove setelah vanillin asam sulfat

Titik Uji	Jumlah Noda	Warna	Rf
I	2	Coklat	0.225
		Hijau Muda	0.525
II	1	Coklat	0.225
III	1	Coklat	0.225

Keterangan: I = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media mangrove 400 gr; II = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media mangrove 200 gr; III = Spot ekstrak jamur C_{14} pada media MEB

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode analisis untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. terdapat dua fase yaitu fase diam yang berupa bidang datar dan fase yang akan bergerak atau mengembang disepanjang fase diam, fase ini disebut fase gerak dan terjadi karena adanya pengaruh kapiler. Pemilihan fase gerak dapat dilakukan dengan membaca berbagai pustaka yang mendukung maupun dengan metode *trial and error* atau mencoba-coba sendiri (Gandjar dan Rohman, 2007). Pada uji KLT fase diam merupakan silika gel dengan eluen atau fase gerak heksana-etil asetat (7:3).

Hasil KLT yang tampak di bawah sinar UV pada ekstrak isolat jamur C_{14} yang ditambahkan 200 gr dan 400 gr mangrove *A. marina* terdapat masing-masing dua noda berwarna hijau dan biru dengan nilai Rf yang sama yaitu 0,7 dan 0,775. Sedangkan pada jamur yang ditanam di media MEB didapatkan tiga noda berwarna hijau, biru, dan biru muda dengan nilai Rf 0,7; 0,775; dan 0,85. Pada ekstrak mangrove *A. marina* terdapat 4 noda yang terbentuk berwarna merah muda dengan nilai Rf 0,1 dan 0,15, dan berwarna jingga dengan nilai Rf 0,25 dan 0,35 (Tabel 6). Setelah dilihat dibawah sinar UV, kemudian plat silika disemprotkan vanillin asam sulfat yang bertujuan untuk melihat apakah terdapat senyawa lain yang tidak tampak dibawah sinar UV. Setelah dilakukan penyemprotan dan dipanaskan, pada titik uji penambahan 400 gr mangrove, tampak dua noda yang muncul berwarna coklat dan hijau muda dengan nilai Rf 0,225 dan 0,525. Sedangkan pada titik uji dengan penambahan 200 gr mangrove dan media MEB tampak masing-masing satu noda berwarna coklat dengan nilai Rf yang sama yaitu 0,225 (Tabel 7).

Aktivitas penghambatan antibakteri oleh tanaman mangrove, diduga karena adanya fotokimia seperti alkaloid, tannin, flavonoid dan glukosa dari ekstrak tanaman tersebut (Fennel et al., 2004 dalam Ravikumar et al., 2010). Dari hasil uji KLT yang sudah dilakukan, nilai Rf yang muncul menunjukkan bahwa ekstrak jamur C_{14} memiliki kandungan yang hampir sama dengan ekstrak mangrove, dan memiliki senyawa lainnya yang berbeda dengan ekstrak daun mangrove, dimana jamur tersebut mendapatkan senyawa yang ada pada ekstrak mangrove dengan penambahan daun mangrove pada media pertumbuhan jamur. Senyawa lain yang terbentuk dapat disebabkan oleh proses biotransformasi dari jamur tersebut yang mengubah senyawa asli pada ekstrak daun mangrove menjadi senyawa baru, sesuai dengan pernyataan Borges et al., 2007 dalam Pimentel et al, 2010, bahwa biotransformasi dapat didefinisikan sebagai penggunaan sistem biologi untuk memproduksi perubahan kimia pada senyawa yang tidak substrat alami mereka.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dan hasil biotransformasinya memiliki potensi sebagai antibakteri untuk bakteri *K. pneumonia* dan *E.*

aerogenes, dengan zona hambat yang lemah, sedang, dan kuat. Penambahan daun mangrove 400 gr menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak jamur lainnya. Berdasarkan hasil uji Kromatografi Lapis Tipis, terdapat perbedaan kandungan senyawa pada jamur C₁₄ dan ekstrak daun mangrove setelah diberikan vanillin asam sulfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirkaveei, S. and A.B. Behrouz. 2011. *Antimicrobial Effect of Mangrove Extrcat on Eschericia coli and Penicillium digitatim*. International Conference on Food Engineering and Biotechnology, 9, Singapore : IACSIT Press.
- Brooks, G.F., K.C. Carroll, J.S. Butel, S.A. Morse, and T.A. Mietzner. 2013. *Jawetz, melnick, and Adelberg's Medical Microbiology 26th Edition*. The McGraw-Hills Companies, Inc., New York, 887 hlm.
- Bukorpioper, I.I. 2015. Aktivitas Antibakteri Jamur Simbion Spons Terhadap Bakteri Multi Drug Resistant Di Perairan Opiaref Dan Bosnik, Kabupaten Biak Numfor (Papua). [Tesis]. Program Studi Magister Ilmu Kelautan, Undip, Semarang.
- Dewi, S.K. 2011. Biotransformasi Katekin Menggunakan Isolat Mikroba Endofit Dari daun tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan Mikroba tanah. [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.
- Gandjar, I.G. dan A. Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Cetakan Pertama. Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 485 hlm.
- Lu H., W.X. Zou, J.C. Meng, J. Hu, and R.X. Tan. 2000. *New Bioactive Metabolites Produced by Colletotrichum sp., an Endophytic fungus in Artemisia annua*. Plant Sci 151: 76–73.
- Melki, D. Soedharma, H. Effendi, dan A.Z. Mustopa. 2010. Biopotensi Tumbuhan Mangrove untuk Pencegahan Penyakit Vibriosis. Maspari journal, 02: 39-47.
- Mordi, R.M. and P.G. Hugbo. 2011. *Frequency of Isolation of Enterobacter Species from a Variety of Clinical Specimens in a Teaching Hospital in Nigeria*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 10 (6): 793-800.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar, dan M.U. Kurnia. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Jurnal Akuatika, Vol. IV, No. 1.
- Noor, Y.R., M. Khazali, dan I.N.N. Suryadiputra. 2006. Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia. PHKA/WI-IP, Bogor, 219 hlm.
- Nurmala, I. Virgiandhy, Andriani, dan D.F. Liana. 2015. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. eJKI vol. 3, No. 1.
- Pimentel, M.R., G. Molina, A.P. Dionísio, M.R.M. Junior, and G.M. Pastore. 2010. *The Use of Endophytes to Obtain Bioactive Compounds and Their Application in Biotransformation Process*. School of Food Engineering, University of Campinas, Brazil.
- Prabhu, V.V., and C. Guruvayoorappan. 2012. *Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove Avicennia marina (Forssk.) Vierh*. Der Pharmacia Sinica, 3(1): 64-70.
- Purwantoro, R.S., A. Agusta, dan Pratiwi. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Schefflera elliptica* (Blume) Harms. Seminar Nasional HUT Kebun Raya Cibodas Ke-159.
- Ravikumar, S., M. Gnanadesigan, P. Suganthi and A. Ramalakshmi. 2010. *Antibacterial potential of chosen mangrove plants against isolated urinary tract infectious bacterial pathogens*. International Jpurnal of Medicine and Medical Sciences, 2(3): 94–99.
- Sibero, M. T., Triningsih, D. W., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Trianto, A. 2016. Evaluation of antimicrobial activity and identification of yellow pigmented marine sponge-associated fungi from Teluk Awur, Jepara, Central Java. Indonesian Journal of Biotechnology 21(1): 1-11/
- Sugiyono. 2012. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&B. Alfabeta, Bandung, 380 hlm
- Suryabrata, S. 1983. Metode Penelitian. PT. Radjawali, Jakarta, 166 hlm.

- Susanti, A.D., D. Ardiana, G. Gumelar, dan Y. Bening. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza Sativa Glatinosa*). Simposium Nasional RAPI XI FT UMS.
- Thiolas, A., C. Bollet, B.L. Scola, D. Raoult, and J.M. Pages. 2005. *Successive Emergence of Enterobacter aerogenes Strains Resistant to Imipenem and Colistin in a Patient*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49 (4): 1354-1358.