

## Potensi Bakteri Endofit Lamun *Enhalus* sp. dengan Aktivitas Antimikrofouling dari Perairan Lampung

Oktora Susanti\*, Maulid Wahid Yusuf, Yeni Elisdiana

Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung  
Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro, Gedong Meneng, Bandar Lampung, Lampung 35145 Indonesia  
\*Corresponding author, e-mail : [oktorasusanti@gmail.com](mailto:oktorasusanti@gmail.com)

**ABSTRAK:** *Enhalus* sp. adalah salah satu jenis lamun dan merupakan tanaman yang sangat penting bagi organisme dan mikroorganisme laut diperairan, salah satunya adalah bakteri karena lamun menyediakan tempat hidup serta penyedia nutrisi pada bakteri. Beberapa hasil penelitian, menyatakan bahwa ekstrak lamun memiliki aktivitas terhadap bakteri yang membentuk biofilm. Terjadinya proses Biofouling diawali dengan terbentuknya film oleh bakteri yang menempel pada permukaan benda yang terendam di dalam laut yang disebut sebagai biofilm. Salah satu cara meminimalisasi biofouling pada umumnya dengan menggunakan bahan beracun yang tidak ramah lingkungan, sehingga perlu dilakukan pencarian alternatif baru untuk menghambat bakteri biofilm. Upaya untuk mengatasi permasalahan dengan menggunakan isolat bakteri endofit lamun merupakan salah satu alternatif ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit lamun *Enhalus* sp. yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri biofouling. Pada penelitian ini, sampel didapatkan dari pantai Ketapang Pesawaran dan pantai Biha, Pesisir Barat Lampung yang diambil dari bagian akar, batang dan daun lamun. Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu pengambilan sampel, isolasi dan purifikasi bakteri endofit lamun dengan metode gores diatas agar, pembentukan bakteri biofilm sebagai bakteri uji pada uji antagonisme, isolasi bakteri biofilm, dan uji antagonis bakteri. Hasil dari isolasi dan purifikasi didapatkan 53 isolat bakteri endofit lamun *Enhalus* sp. yang akan diuji pada 25 isolat bakteri biofilm. Uji antagonis bakteri endofit lamun dengan kode LEDB2.4 dapat menghambat 4 jenis bakteri biofilm. Besar zona hambat terbesar yaitu terhadap bakteri biofilm dengan kode 3.1 sebesar 18,73 mm.

**Kata kunci:** Bakteri biofilm; isolasi; uji antagonis; zona hambat.

### *Study of The Potential Endophyte Bacterials Of Seaweed Enhalus sp. with Antimicrofouling Activities from Lampung Waters*

**ABSTRACT:** Seagrass *Enhalus* sp. is a plant that very important for marine organisms and microorganisms in waters, one of which is bacteria because seagrass provides a place to live and nutrients for bacteria. Some research results state that seagrass extracts have activity against bacteria that form biofilms. The occurrence of the biofouling process begins with the formation of a film by bacteria attached to the surface of objects submerged in the sea which is called a biofilm. One way to minimize biofouling in general is to use toxic materials that are not environmentally friendly, so it is necessary to search for new alternatives to inhibit biofilm bacteria. Efforts to overcome the problem by using endophytic bacteria isolates from seagrass are an environmentally friendly alternative. This study aims to obtain the endophytic bacteria of seagrass *Enhalus* sp. which can inhibit the growth of biofouling bacteria. In this study, samples were obtained from Ketapang beach Pesawaran and Biha beach, West Coastal of Lampung that's taken from the roots, stems and leaves of seagrass. The stages of the research carried out were sampling, isolation and purification of endophytic bacteria from seagrass, formation of biofilm bacteria as test bacteria in the antagonism test, and isolation of bacterial biofilm, and bacterial antagonist test. The results of isolation and purification obtained 53 isolates of seagrass endophytic bacteria which will be tested on 25 isolates of biofilm bacteria. Antagonistic test of seagrass endophytic bacteria with code LEDB2.4 can inhibit 4 types of biofilm bacteria. The largest inhibition zone was against biofilm bacteria with code 3.1 of 18.73 mm.

**Keywords:** Biofilm bacteria; isolation; antagonism test; inhibition zone

## PENDAHULUAN

Biofouling merupakan penempelan dan pertumbuhan organisme pada permukaan substrat abiotik maupun biotik yang berada di bawah permukaan air. Biofouling terdiri dari mikrofouling dan makrofouling. Mikrofouling adalah kolonisasi mikroorganisme yang terbawa arus sehingga menempel pada permukaan benda padat. Makrofouling merupakan akumulasi penempelan organisme berukuran besar seperti teritip, alga hijau, cacing kapal, kerang, dan tunikata yang menempel pada material padat seperti badan kapal dan juga pada bangunan pantai (Costerton *et al.*, 1995).

Biofouling sering kali mengakibatkan masalah pada industri maritim yaitu transportasi laut seperti perkapalan dan struktur pelabuhan. Biofouling pada badan kapal mengakibatkan peningkatan kekasaran dan semakin menambah beban daya tarik kapal sehingga konsumsi bahan bakar semakin meningkat. Hal ini menunjukkan semakin pentingnya penelitian untuk menemukan sumber antibiotik baru yang mampu mengatasi bakteri biofouling dimana sumber antibiotik tersebut dapat berasal dari bakteri endofit lamun *Enhalus sp.*

Beberapa penelitian telah membuktikan adanya bahan aktif yang dihasilkan oleh beberapa jenis lamun yang mempunyai aktifitas antifouling seperti pada jenis *Zostera marina* (Jensen *et al.* 1998), *Thalassia testudinum* (Armstrong *et al.*, 2000; Maxey, 2006), *Syringodium filiforme* (Maxey 2006), *Enhalus acoroides*, *Cymodocea serrulata* dan *Syringodium isoetifolium* (Mayavu *et al.*, 2009). *Enhalus sp.* merupakan salah satu jenis lamun yang ekstraknya memiliki aktivitas sebagai penghambat bakteri yang membentuk biofilm (Arlyza, 2009), sehingga besar kemungkinan bahwa bakteri endofit lamun juga mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antifouling.

## MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel dilakukan di dua tempat yaitu pantai Ketapang Pesaaran dan pantai Biha, Pesisir Barat Lampung. Sampel diambil pada bagian akar, daun, dan batang menggunakan *cutter*, kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan disimpan sementara dalam *cool box*. Sampel selanjutnya disemprot dengan air laut steril untuk membersihkan bakteri perairan yang menempel pada permukaannya (Trianto *et al.*, 2019). Isolasi bakteri dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

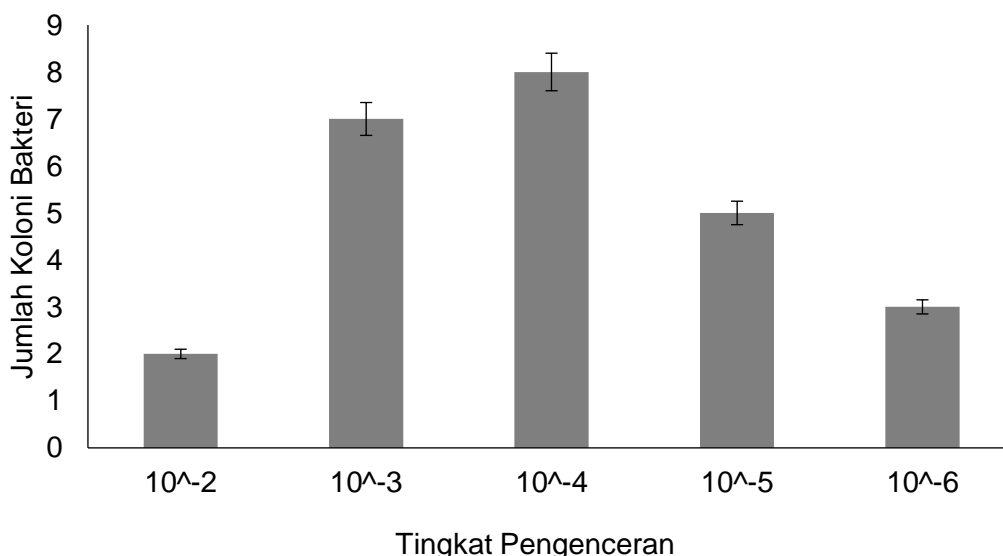
Sampel akar, daun, dan batang direndam dalam alkohol 70% selama 30 detik, dikeringkan, kemudian direndam kembali selama 30 detik. Perendaman dilakukan untuk menghindari kontaminasi bakteri epifit. Bagian permukaan akar, daun, dan batang dihilangkan menggunakan *cutter*, kemudian dipotong kecil-kecil dan diletakkan pada media Zobell 2216E (Strobel dan Daisy, 2003; Kumala dan Siswanto, 2007). Media Zobell adalah media yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri laut (Radjasa *et al.*, 2007; Fajarningsih *et al.*, 2012). Simpan pada suhu ruang untuk menumbuhkan mikroba. Setelah 1x24 jam akan terlihat pertumbuhan bakteri disekitar sampel yang diletakkan pada media Zobell. Bakteri yang telah tumbuh kemudian dimurnikan satu-persatu menggunakan jarum ose dan dipindahkan ke media agar steril pada cawan petri lainnya, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan. Bakteri biofilm diambil dari potongan kayu yang direndam pada pasang surut perairan laut Ketapang kecamatan Padang Cermin yang bertujuan pembentukan bakteri biofilm. Perendaman kayu berlangsung selama 7 hari, kemudian diisolasi menggunakan media zobell dengan cara pengenceran sebesar  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$  dan di inkubasi selama 24jam selanjutnya diamati morfologi, bentuk dan warna bakteri. Uji antagonis antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *overlay* (Terkina *et al.*, 2006; Trianto *et al.*, 2019). Setiap koloni mikroba endofit lamun ditanam pada media padat Zobell 2216E laut dan dibentuk menjadi bulatan kecil. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu kamar selama 1-2 hari. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri biofilm. Bakteri uji yang telah ditanam dan ditumbuhkan hingga kepadatan  $10^8$  CFU/ml pada media cair tawar atau laut. Setelah dilakukan *overlay* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1x24 jam. Isolat mikroba endofit yang aktif terlihat dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni yang kemudian diukur diameternya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroorganisme hidup membentuk komunitas sesil lebih banyak daripada hidup sebagai sel planktonik. Mikrokoloni merupakan kumpulan komunitas sesil bakteri pada semua permukaan di lingkungan perairan (Donlan, 2002; Munn, 2004). Hal ini juga serupa dengan hasil penelitian dimana setelah perendaman kayu pada kolom air selama satu minggu. Pembentukan biofilm terjadi setelah bakteri menempel di permukaan kayu dan sel bakteri membentuk suatu lapisan ekstraseluler polimer substansi (EPS). Biofilm terbentuk saat mikroorganisme melekat pada suatu permukaan benda di perairan dan memproduksi ekopolisakarida yang membantu dalam proses pelekatan pada permukaan. Proses pelekatan memberikan keuntungan bagi bakteri untuk hidup dalam kumpulan biofilm, termasuk untuk berlindung dari zat antimikroba. Salah satu ekopolisakarida yang diproduksi oleh bakteri pembentuk biofilm adalah *glycocalyx* (Lappin scott *et al.*, 1992). Jumlah bakteri biofilm yang didapatkan sebanyak 25 jenis bakteri Gambar 1. dengan berbagai jenis bentuk morfologi dan tekstur yang berbeda. Pada pengenceran  $10^{-2}$  didapatkan jumlah bakteri sebanyak 2 jenis koloni, pengenceran  $10^{-3}$  didapatkan jumlah koloni sebanyak 7 koloni, pengenceran  $10^{-4}$  didapatkan jumlah koloni sebanyak 8 koloni, pengenceran  $10^{-5}$  didapatkan jumlah koloni sebanyak 5 koloni, dan pengenceran  $10^{-6}$  didapatkan jumlah koloni sebanyak 3 koloni. Struktur bakteri biofilm sangat beragam dan dinamis (Callow & Callow 2002; Fleming 2009).

Biofouling yang terjadi disebabkan adanya nutrient pada permukaan kayu, sehingga tersedianya sumber makanan dan menarik mikroorganisme menempel pada permukaan kayu. Penumpukan dan hasil reproduksi mikroorganisme yang terjadi pada permukaan kayu menjadi sumber nutrisi dan dapat menarik organisme multiseluler untuk ikut tinggal di tempat tersebut. Perbedaan jenis kayu akan mempengaruhi penempelan organisme fouling karena elastisitas dan kandungan kimia pada masing-masing jenis kayu berbeda (Railkin, 2004). Menurut Boesono (2008) hasil penelitian yang telah dilakukan kayu jenis jati memiliki kecepatan pertumbuhan organisme fouling lebih cepat. Menurut Nagabushanam dan Alam (1988) ada jenis kayu yang resisten terhadap organisme fouling dibandingkan jenis kayu yang lain. Tingkat resisten ini dipengaruhi oleh perbedaan lokasi, jenis organisme penempel, kualitas kayu dan kondisi fisik lingkungan.

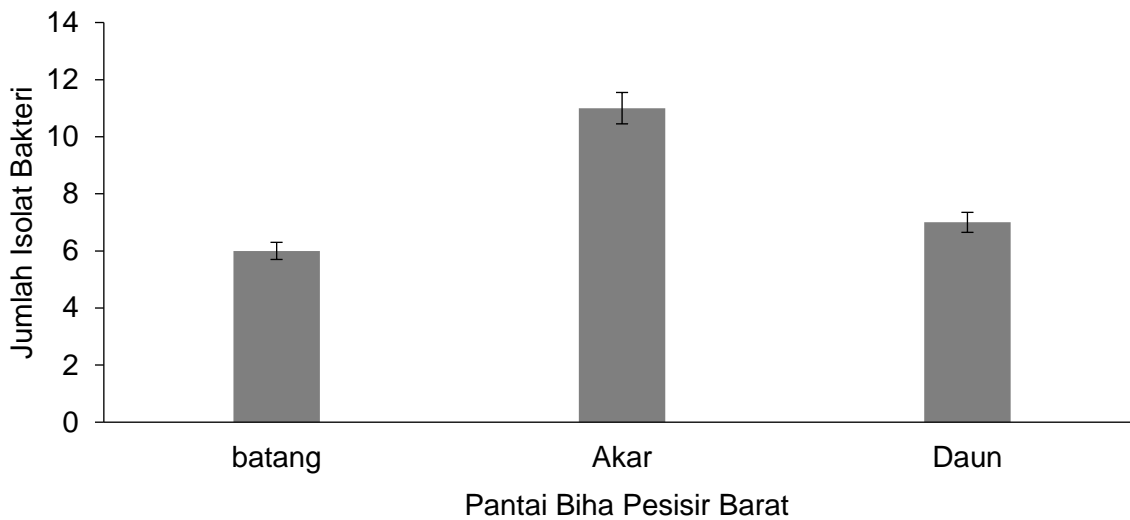
Penelitian ini mendapatkan hasil bakteri yang diisolasi dari jenis endofit (akar, batang dan daun) lamun *Enhalus* sp. dapat berkembang dengan baik pada media Zobell 2216E. Bakteri yang tumbuh dapat dilihat pada Gambar 2. Sampel lamun diambil di dua tempat yaitu pantai Biha dan pantai Ketapang. Pada isolasi bakteri endofit pantai biha ditemukan sebanyak 24 koloni bakteri,



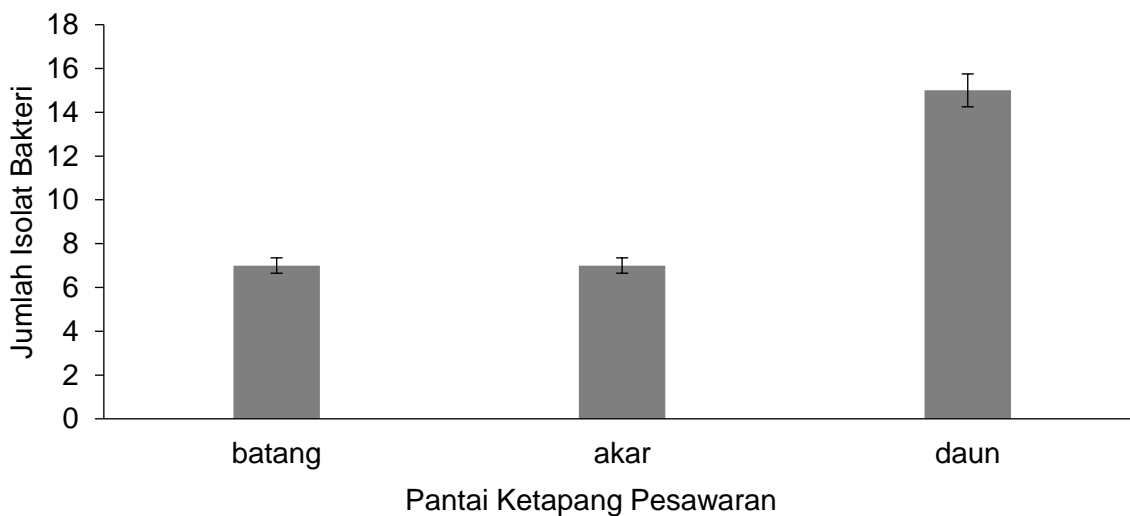
**Gambar 1.** Hasil Isolasi bakteri biofilm dengan perendaman 14 hari

terdiri dari bagian akar 11 koloni, bagian batang 6 koloni dan bagian daun 7 koloni. Bakteri endofit yang tumbuh memiliki warna, morfologi dan tekstur yang berbeda-beda. Mikroorganisme endofit akan menjadi sumber yang ramah lingkungan/konservatif. Hal ini karena mikroorganisme merupakan organisme yang mudah dikultur, memiliki siklus hidup lebih singkat daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar.

Sampel lamun yang diambil pada pantai ketapang didapatkan isolasi bakteri endofit sebanyak 29 koloni bakteri, terdiri dari bagian akar 7 koloni, bagian batang 7 koloni dan bagian daun 15 koloni. Bakteri endofit yang tumbuh memiliki warna, morfologi dan tekstur yang berbeda-beda Gambar 3. Pengujian awal bakteri endofit lamun yang aktif terhadap bakteri biofilm dilakukan supaya mengetahui bakteri yang memiliki sifat paling kuat sebagai antimikroba. Semakin mengembangkan penemuan untuk penelusuran bahan bioaktif dari laut yang berasal dari bakteri simbiosis (Kumala dan Siswanto, 2007). Dari hasil uji antagonis bakteri endofit lamun LEDB2.4 dapat menghambat empat jenis bakteri biofilm dengan kode 3.1, 3.7, 4.2, dan 5.2 dengan diameter zona hambat sebesar 18,73 mm, 16,83 mm, 5,2 mm, dan 3,3 mm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit lamun memiliki senyawa bioaktif yang aktif menghambat aktivitas



**Gambar 2.** Hasil Isolasi bakteri Lamun yang berasal dari pantai Biha Pesisir Barat



**Gambar 3.** Hasil Isolasi bakteri Lamun yang berasal dari pantai Ketapang

bakteri biofilm. Terdapatnya zona hambat ini, dikarenakan bakteri memiliki sifat metabolit sekunder yang mungkin identik dengan tumbuhan lamun sebagai inangnya. Lamun mengandung ester sulfat yang memiliki aktivitas antifouling, memungkinkan ester sulfat dapat mencegah biota penempel termasuk organisme pembentuk biofilm (Zimmerman *et al.*, 1997).

Menurut Prihatiningtias (2006), simbiosis bakteri endofit dengan cara bakteri endofit memperoleh nutrisi dari inangnya dan inang memperoleh keuntungan karena adanya endofit akan memperkuat pertahanan terhadap gangguan dari luar seperti patogen dan organisme fouling. Jadi Senyawa antifoulant yang dihasilkan oleh bakteri endofit ini diduga digunakan oleh bakteri untuk mencegah penempelan yang terjadi pada lamun yang menjadi inang bagi bakteri endofit tersebut. Hal ini juga sesuai dengan Marhaeni *et al.*, (2011), yang menyatakan bahwa mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan yang menghasilkan bahan bioaktif diketahui memiliki aktivitas yang sama bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Hal ini sangat efisien dan menguntungkan karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dan mudah dikultur dibandingkan siklus hidup inangnya.

## KESIMPULAN

Lamun memiliki bakteri endofit dengan morfologi koloni bakteri yang beragam bentuk, warna serta teksturnya. Bakteri endofit lamun isolat LEDB2.4 mampu menghambat aktivitas bakteri biofilm dengan diameter 18,73 mm. Dapat disimpulkan bahwa isolat LEDB2.4 bakteri endofit lamun *Enhalus sp.* dari perairan Lampung memiliki potensi sebagai antimikrofofant.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Lampung melalui Program Hibah Penelitian Dosen Pemula UNILA 2019 dengan nomor kontrak penelitian: 2618/UN26.21/PN/2019

## DAFTAR PUSTAKA

- Aryza, I.S. 2009. Ekstrak Lamun Sebagai Sumber Alternatif Antibakteri Penghambat Bakteri Pembentuk Biofilm. Pusat Penelitian Oseanografi, LIPI: Jakarta.
- Armstrong, E., Boyd, G. & Burgess, J. 2000. Prevention of marine biofouling using natural compounds from marine organisms. *Biotechnology Annual Review*. Elsevier Science.246p
- Boesono, H. 2008. Pengaruh lama perendaman terhadap organism penempel dan modulus elastisitas pada kayu. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science*.13(3):177–180.
- Callow, M.E. & Callow, J.A. 2002. Marine Biofouling : a Sticky Problem. *Biologist*, 49(1):1-5.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R. & Lappingcott, H.M. 1995. Microbial Biofilm. *Annual Review of Microbiology*, 49:711-745.
- Donlan, R.M. 2002. Biofilm : Microbial Live in Surface. *Emerging Infectious Diseases*. 8(9):881-890.
- Fajarningsih N.D, Pratitis, A., Wikanta, T. & Chasanah, E. 2012. Bioprospeksi Kapang yang Berasosiasi Dengan Biota Laut Asal Kepulauan Seribu sebagai Antitumor T47D dan HepG2. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 7(1):21-30.
- Fleming, H.C. 2009. Why microorganisms live in biofilm and the problem of biofouling. *Marine and Industrial Biofouling*. Springer Berlin Heidelberg.
- Jensen, R., Jenkins, K.M., Porter, D. & Fenicall, W. 1998. Evidence that a new antibiotic flavone glucoside chemically Defends the lamun *Thalassia testudinum* against zoosporic fungi. Scripps Institute of Oceanography, Center for Marine Biotechnolghy and Biomedicane, University of California- San Diego,La jolla, California. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4): 1490-1496
- Kumala, S. & Siswanto, E.B. 2007. Isolation and Screening of Endophytic Microbes from *Morinda ciliforia* and their Ability to Produce Anti-Microbial Substance. *Microbiology Indonesia*, 1(3): 145–148.

- Lappin, H., Scott, Costerton, J.W. & Marrie, T.J. 1992. Encyclopedia of Microbiology: Biofilm and Biofouling. London: Acedemy Press, Inc.pp.277-284.
- MaMarhaeni, B., Radjasa, O.K., Khoeri, M.M., Sabdono, A., Bengen, D.G. & Sudoyo, H. 2011. Antifouling Activity of Bacterial Symbionts of Seagrasses against Marine Biofilm-Forming Bacteria. *Journal of Environmental Protection*, 2(9):1245-1249.
- Maxey, IV.C.E. 2006. Occurrence and Distribution of Irganol 1051 and its Natural Metabolites in Biotic and Abiotic Marine Samples, having been approved in respect to style and intellectual content, is referred to you for judgment. Florida International University.
- Mayavu, C., Sugesh, S. & Ravindran, V.J. 2009. Antibacterial Activity of Seagrass species against biofilm forming bacteria. *Research Journal of Microbiology* 4(8):314-319.
- Munn,C.B. 2004. Marine Microbiology, Ecology and Aplication. Garland Science/BIOS Scientific Publishers.
- Nagabushanam, R. & Alam, S.M. 1988. An overview of research on marine biodeterioration in Indian waters; in: Marine Biodeterioration (Thompson, M.F. and Nagabushanam, R., Eds), Oxford & IBH Publishig Co. Pvt. Ltd., New Dehli.13-32pp.
- Prihatiningtyas, W. 2006. Mikroba Endofit, Sumber Penghasil Antibiotik yang Potensial. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Radjasa, O.K., Salasia, S.I.O., Sabdono, A., Wiese, J., Imhoff, J.F., Lämmler, C. & Risk, M.J. 2007. Antibacterial activity of marine bacterium *Pseudomonas* sp. associated with soft coral *Sinularia polydactyla* against *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *International Journal of Pharmacology*, 3(2): 170-174.
- Railkin, A.I. 2004. Marine Biofouling; Colonization Processes and Defence. CRC Press. Florida.
- Strobel, G.A. & Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4): 491-502.
- Terkina, I.A., Parfenova, V.V. & Ahn, T.S. 2006. Antagonistic activity of actinomycetes of Lake Baikal. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42:173–176.
- 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*. *Jurnal Biodiversitas*, 4(8):2302- 2307.
- Zimmerman, R.C., Alberte, R.S., Todd, J.S. & Crews, P. 1997. Phenolic Acid Sulfate Esters for Prevention of Marine Biofouling. United State Patent 56077441