

Screening Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Mangrove dari Kawasan Mangrove Karangsong, Indramayu

Hanafi, Salwa Atika, Muhamad Amrulloh, Felda Shafira Nugraha, Yun Purnamasari, Lathif Akmal Assajid, Riyanti*

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Banyumas, Jawa Tengah 53122, Indonesia
Corresponding author, e-mail: riyanti1907@unsoed.ac.id

ABSTRAK: *Multidrug Resistance* (MDR) adalah sebuah kasus dimana bakteri memiliki kemampuan resistensi terhadap beberapa antibiotik. Permasalahan ini akan menjadi semakin kronis hingga diprediksi akan terjadi 10 juta kematian sampai tahun 2050. Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi senyawa antibiotik yang mampu melawan bakteri patogen yang telah memiliki resistensi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik dan potensi aktivitas antibakteri melalui perbedaan metode uji antibakteri dan media kultur dari bakteri endofit mangrove jenis *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* K12, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, dan *Bacillus megaterium* DSM32. Penelitian menggunakan metode eksperimen untuk menguji optimasi perbedaan media kultur dan metode uji antibakteri, yaitu media TSA dan PDA serta metode *agar plug* dan kertas cakram. Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa zona inhibisi yang diproduksi menggunakan metode *agar plug* berkategori sangat kuat (AA6T, AA5P, dan AA28P sebesar 37,35 mm, dan 30 mm terhadap *B. megaterium* serta 24,5 mm terhadap *M. luteus*), kuat (AA9P & AA9T sebesar 13,7 dan 11,3 mm terhadap *B. megaterium*), sedang (AR13P & AR13T sebesar 9,7 mm terhadap *B. megaterium*), dan lemah (AA7P & DA10T sebesar 3 dan 2,1 mm terhadap *B. megaterium*) sedangkan pada metode difusi kertas cakram hanya berkategori lemah (DR4P dan AA8T sebesar 5,05 mm dan 5,75 mm terhadap *B. megaterium*). Kesimpulan dari penelitian ini didapatkan bahwa isolat bakteri endofit mangrove jenis *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. memiliki potensi sebagai sumber senyawa antibakteri dan zona inhibisi yang diproduksi lebih besar menggunakan metode difusi *agar plug* serta perbedaan media akan berpengaruh terhadap zona inhibisi yang diproduksi.

Kata kunci: Bakteri endofit; *Avicennia* sp.; *Rhizophora* sp.; *agar plug*; kertas cakram

Screening Antibacterial Activity of Mangrove Endophytic Bacterial Isolates from Karangsong Mangrove Area, Indramayu

ABSTRACT: *Multidrug Resistance* (MDR) is a case where bacteria have the ability to resist multiple antibiotics. This problem will become increasingly chronic until it is predicted that there will be 10 million deaths by 2050. Therefore, it is necessary to explore antibiotic compounds that are able to against pathogenic bacteria that already have resistance. The purpose of this study was to determine the characteristics and antibacterial potential of mangrove endophytic bacteria isolated from *Avicennia* sp. and *Rhizophora* sp. using different antibacterial test methods and culture media, against the pathogenic bacteria *Escherichia coli* K12, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, and *Bacillus megaterium* DSM32. Experimental method was applied to test the optimization of different culture media and antibacterial test methods, namely TSA and PDA media as well as *agar plug* and paper disc methods. The results of this study revealed that the inhibition zones produced using the *agar plug* method were categorized as very strong (AA6T, AA5P, and AA28P by 37.35 mm, and 30 mm against *B. megaterium* and 24.5 mm against *M. luteus*), strong (AA9P & AA9T by 13.7 and 11.3 mm against *B. megaterium*), moderate (AA9P & AA9T by 13.7 and 11.3 mm against *M. luteus*), and strong (AA9P & AA9P by 13.3 mm against *B. megaterium*). *megaterium*), moderate (AR13P & AR13T by 9.7 mm against *B. megaterium*), and weak (AA7P & DA10T by 3 and 2.1 mm against *B. megaterium*) while in the disc paper diffusion method only categorized as weak (DR4P and AA8T by

5.05 mm and 5.75 against *B. megaterium*). Mangrove endophytic bacterial isolates of *Avicennia* sp. and *Rhizophora* sp. have potential as a source of antibacterial compounds and the inhibition zone produced is greater using the agar plug diffusion method and differences in media will affect the inhibition zone produced.

Keywords: Endophytic bacteria; *Avicennia* sp.; *Rhizophora* sp.; Agar plug; Disc paper

PENDAHULUAN

Multidrug Resistance (MDR) adalah kemampuan resistensi antibiotik oleh bakteri tertentu untuk bertahan hidup. Kasus ini telah dipelajari sejak lama dan diketahui disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tersedia bebas sehingga menyebabkan resistensi bakteri patogen hingga menyebabkan ancaman yang lebih besar (Ravikumar *et al.*, 2018). Lebih dari seratus jenis antibiotik yang ditemukan telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit menular. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai panduan menyebabkan permasalahan lain yang lebih kronis (Trotter *et al.*, 2019). Dunia menghadapi krisis permasalahan resistensi antibiotik oleh bakteri patogen. Beberapa bakteri patogen yang telah diidentifikasi memiliki resistensi terhadap antibiotik diantaranya *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicilline*, *Escherichia coli* yang resisten terhadap *ceftriaxone*, *levofloxacin*, *doxycycline*, dan *ciprofloxacin*. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Mycobacterium tuberculosis* diidentifikasi resisten terhadap beberapa antibiotik.

Permasalahan resistensi antibiotik telah diperkirakan menjadi semakin kronis pada tahun 2050, peningkatan jumlah patogen yang resisten menyebabkan 10 juta kematian per tahun (Niu & Li, 2019). Tidak hanya bagi manusia, tetapi resistensi antibiotik juga menjadi masalah besar di lingkungan sejak peningkatan jumlahnya semakin cepat dalam beberapa tahun terakhir yang disebabkan oleh pembuangan antibiotik ke dalam lingkungan (López-Jácome *et al.*, 2019). Mengingat bahwa antibiotik baru diperlukan untuk memerangi patogen yang resisten terhadap beberapa antibiotik, sejumlah penelitian tentang tumbuhan dan turunannya terhadap ratusan strain mikroba telah dilakukan dan dilaporkan memiliki potensi antimikroba yang luar biasa (Vaou *et al.*, 2021). Eksplorasi senyawa antibiotik dari tumbuhan dan turunannya semakin masif dilakukan. Pemilihan sampel yang memiliki karakteristik unik menjadi keharusan karena proses adaptasi yang dilakukan pada lingkungan yang ekstrem atau unik akan memiliki peluang lebih besar dalam mendapatkan senyawa antibiotik yang baik (Steven *et al.*, 2022).

Meskipun agen antimikroba sintetis sudah disetujui banyak negara, penggunaan senyawa alam yang berasal dari tanaman terus menarik perhatian banyak peneliti (Moloney, 2016). Tumbuhan dan mikroorganisme yang hidup di dalamnya telah berevolusi bersama untuk beradaptasi dengan lingkungan tertentu, satu spesies tanaman bisa menjadi inang ribuan mikroorganisme yang dikategorikan sebagai epifit dan endofit (Singh *et al.*, 2016). Baru-baru ini, mikroorganisme endofit yang hidup di jaringan bagian dalam tanaman tanpa menyebabkan gejala eksternal telah diselidiki lebih lanjut karena hubungannya yang kompleks dengan inang. Kehadiran endofit pada tanaman inang menyediakan beberapa manfaat, terutama perlindungan dari patogen, hal ini terjadi karena metabolit endofit yang telah dilaporkan dapat menghambat sejumlah mikroorganisme (Deepika *et al.*, 2016). Senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit juga merupakan turunan dari inangnya. Hal ini disebabkan oleh proses koevolusi dan transfer materi genetik yang terjadi antara bakteri endofit dan inangnya. Oleh karena itu, penggunaan bakteri endofit dalam penelitian lebih efektif dan efisien karena proses kultivasi yang mudah dan konservatif (Rau *et al.*, 2018). Beberapa studi juga melaporkan kemampuan bakteri endofit untuk menghasilkan senyawa aktif seperti alkaloid, terpenoid, fenolik, steroid, dan tanin yang berasal dari inangnya. Senyawa aktif tersebut menjadi senyawa potensial untuk antimikroba, antikanker, dan aktivitas biologis lainnya (Gouda *et al.*, 2016).

Hutan mangrove memiliki karakteristik dengan salinitas, pasang surut, tekanan angin, berlumpur yang ekstrim, dan memiliki konsentrasi oksigen yang rendah (Friess, 2016). Oleh karena

itu, mikroba di habitat ini cenderung mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Mikroorganisme di ekosistem mangrove umumnya mengembangkan sistem adaptasi yang mungkin menginduksi *gene clusters* biosintetik metabolit sekunder untuk menghasilkan metabolit sekunder baru (Nofiani *et al.*, 2022). Ekosistem mangrove telah terbukti sebagai sumber potensial untuk menemukan berbagai spesies bakteri penghasil enzim, protein, antibiotik yang berpotensi untuk dimanfaatkan di masa depan (Mamangkey *et al.*, 2021). Studi terbaru mengungkapkan bahwa bakteri endofit dari tanaman mangrove merupakan sumber penting senyawa bioaktif metabolit sekunder. Senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman endofit mangrove secara struktural beragam dan aktif secara farmakologis, sejumlah penelitian telah mengisolasi bakteri dari mangrove dan isolat ini dapat menghambat berbagai bakteri patogen (Dat *et al.*, 2019).

Hutan mangrove di Karangsong, Indramayu memiliki potensi dalam menghasilkan bakteri endofit yang memiliki senyawa antibakteri. Melalui penelitian yang dilakukan oleh Oktafiyanto *et al.*, (2018), sampel bakteri endofit dari mangrove Karangsong, Indramayu terbukti memiliki aktivitas antagonis terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* dan nematoda *Meloidogyne* spp. Namun, penelitian terkait pengujian aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari jenis mangrove *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. di Kawasan Hutan Mangrove, Karangsong terhadap bakteri patogen masih belum dilakukan. Meninjau hal tersebut, perlu dilakukan penelitian terkait *screening* aktivitas antibakteri dari bakteri endofit mangrove jenis *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. dari Kawasan Hutan Mangrove Karangsong, Indramayu terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, dan *Micrococcus luteus*. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi isolat bakteri dan potensi aktivitas antibakteri melalui perbedaan metode uji antibakteri dan media kultur dari bakteri endofit mangrove jenis *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, dan *Bacillus megaterium*.

MATERI DAN METODE

Sampel mangrove diambil di Kawasan Hutan Mangrove Karangsong, Indramayu pada 10 Agustus 2023. Bagian tumbuhan mangrove yang akan dijadikan sampel, di antaranya bagian daun, batang, dan akar. Sampel dibersihkan dengan air laut steril dan dimasukkan ke dalam plastik, kemudian di simpan di dalam *coolbox*. Selanjutnya, sampel dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman.

Isolasi dilakukan dengan metode *serial dilution* (pengenceran serial) dan isolasi langsung untuk memperbanyak isolat bakteri. Isolasi secara langsung dilakukan dengan sampel dipotong-potong dengan ukuran 1x1 cm, kemudian potongan sampel diletakkan pada permukaan media *pure agar* yang telah ditumbuhi bakteri patogen selama 18 jam (Riyanti *et al.*, 2023). Metode pengenceran serial dilakukan dengan melarutkan potongan sampel mangrove ke dalam air laut di dalam tabung reaksi. Proses pengenceran menggunakan 10^{-0} , 10^{-1} , dan 10^{-2} . Hasil isolasi diinkubasi sampai isolat tumbuh dan diamati jumlah koloni yang tumbuh (Ariyanti & Arsita 2023).

Purifikasi dilakukan untuk mendapatkan isolat koloni tunggal agar dapat diamati karakterisasi morfologinya dan dapat dilakukan uji aktivitas antibakteri. Purifikasi dilakukan dengan metode *streak plate* 4 kuadran. Media yang digunakan yaitu TSA dan PDA dengan pelarut *sea water*. Perbedaan media ini diterapkan untuk mengetahui media optimal untuk isolate bakteri mangrove (Rau *et al.*, 2018).

Uji antibakteri dilakukan dengan metode *agar plug* dan kertas cakram. Metode *agar plug* dilakukan dengan cara bakteri patogen *E. coli* K12, *M. luteus* ATCC 4698, dan *B. Megaterium* DSM32 diinokulasi menggunakan metode *pour plate* dalam media NA. Kultur agar isolat bakteri selanjutnya dipotong membentuk agar-plot atau silinder secara aseptis kemudian diletakkan diatas permukaan media NA (Balouiri *et al.*, 2016). Isolat bakteri pada media TSB dan PDB digunakan dalam metode difusi *kertas cakram*. Metode difusi kertas cakram dilakukan dengan cara bakteri patogen *E. coli*, *M. luteus*, dan *B. megaterium* diinokulasikan menggunakan *cotton swab* pada media NA. Supernatan isolat bakteri sebanyak 10 μ L digunakan untuk uji antibakteri. Penisilin dengan konsentrasi 10 mg/mL sebanyak 10 μ L digunakan sebagai kontrol positif dan media NA sebagai kontrol negatif (Nurhayati *et al.*, 2020). Diameter zona inhibisi yang terbentuk diamati dan dihitung

serta diinterpretasikan lemah (≤ 5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), sangat kuat (≥ 21 mm) (Balouiri *et al.*, 2016). Sampel yang berpotensi akan diawetkan dalam *cryotube*. Pengawetan dapat dilakukan dengan cara isolat bakteri diinokulasikan pada larutan gliserol 80% sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL akuades kedalam (Kushkevych *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

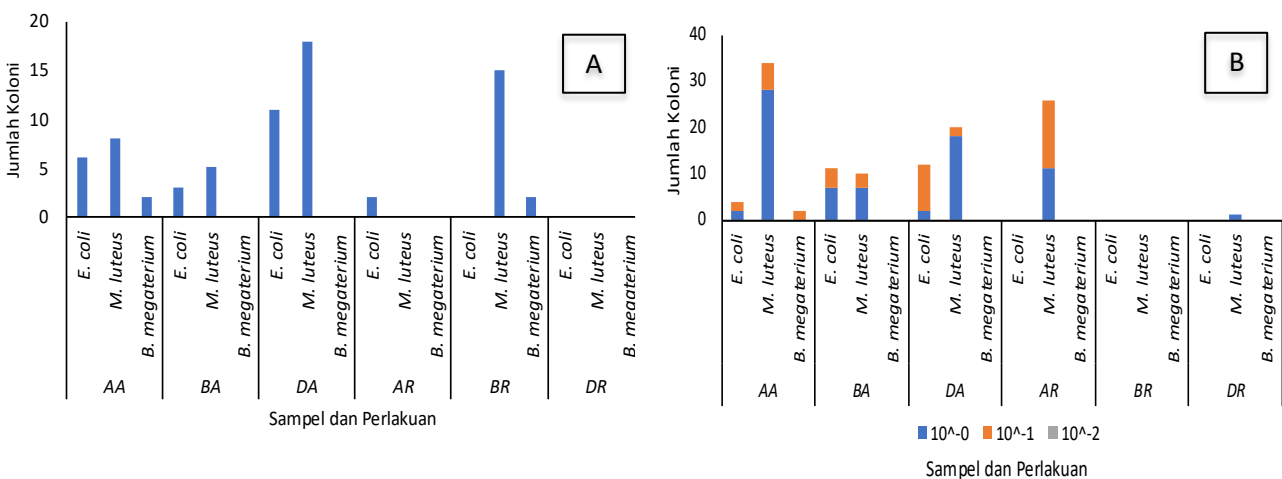
Total Plate Count (TPC)

Total plate count (TPC) merupakan suatu metode yang dapat digunakan dalam mengidentifikasi sel bakteri yang hidup dalam *plate* agar. Metode ini digunakan untuk memvalidasi perhitungan bakteri yang telah berhasil diisolasi (Wang *et al.*, 2023).

Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan secara manual dengan menandakan koloni bakteri yang tumbuh. Berdasarkan Gambar 1, hasil ini diketahui bakteri endofit *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp. dapat hidup pada media *pure agar* yang telah ditetesi bakteri patogen. Bakteri yang tumbuh pada media tersebut merupakan bakteri selektif, karena media yang digunakan memiliki nutrisi yang terbatas untuk pertumbuhan bakteri sehingga hanya bakteri tertentu yang dapat tumbuh pada media tersebut. Hal ini sesuai dengan tujuan penggunaan media selektif adalah untuk mendapatkan mikroba sesuai dengan karakteristik yang diinginkan (Huslina & Harahap 2019). Pada bakteri endofit mangrove yang diisolasi secara langsung didapatkan hanya bakteri endofit dari akar *Avicennia* sp. dan akar *Rhizophora* sp. yang mampu tumbuh dalam media yang telah ditetesi *B. megaterium*. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa bakteri endofit dari akar *Avicennia* sp. memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap *B. megaterium*. Penambahan bakteri patogen bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit selektif yang mampu tumbuh bersaing dengan bakteri patogen (Sousa *et al.*, 2018).

Karakterisasi Morfologi

Pengamatan tentang karakterisasi morfologi dari isolat bakteri serta purifikasi perlu dilakukan, agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri. Pengamatan dilihat baik dari segi bentuk, tepian, elevasi, warna, dan ukuran dapat membedakan setiap jenis bakteri endofit yang didapatkan (Ullah *et al.*, 2021).



Gambar 1. Hasil perhitungan TPC (A) menggunakan metode isolasi langsung; (B) menggunakan metode serial dilusi.

Keterangan: AA = Akar *Avicennia* sp.; BA = Batang *Avicennia* sp.; DA = Daun *Avicennia* sp.; AR = Akar *Rhizophora* sp.; BR = Batang *Rhizophora* sp.; DR = Daun *Rhizophora* sp.

Tabel 1. Karakterisasi morfologi isolat bakteri

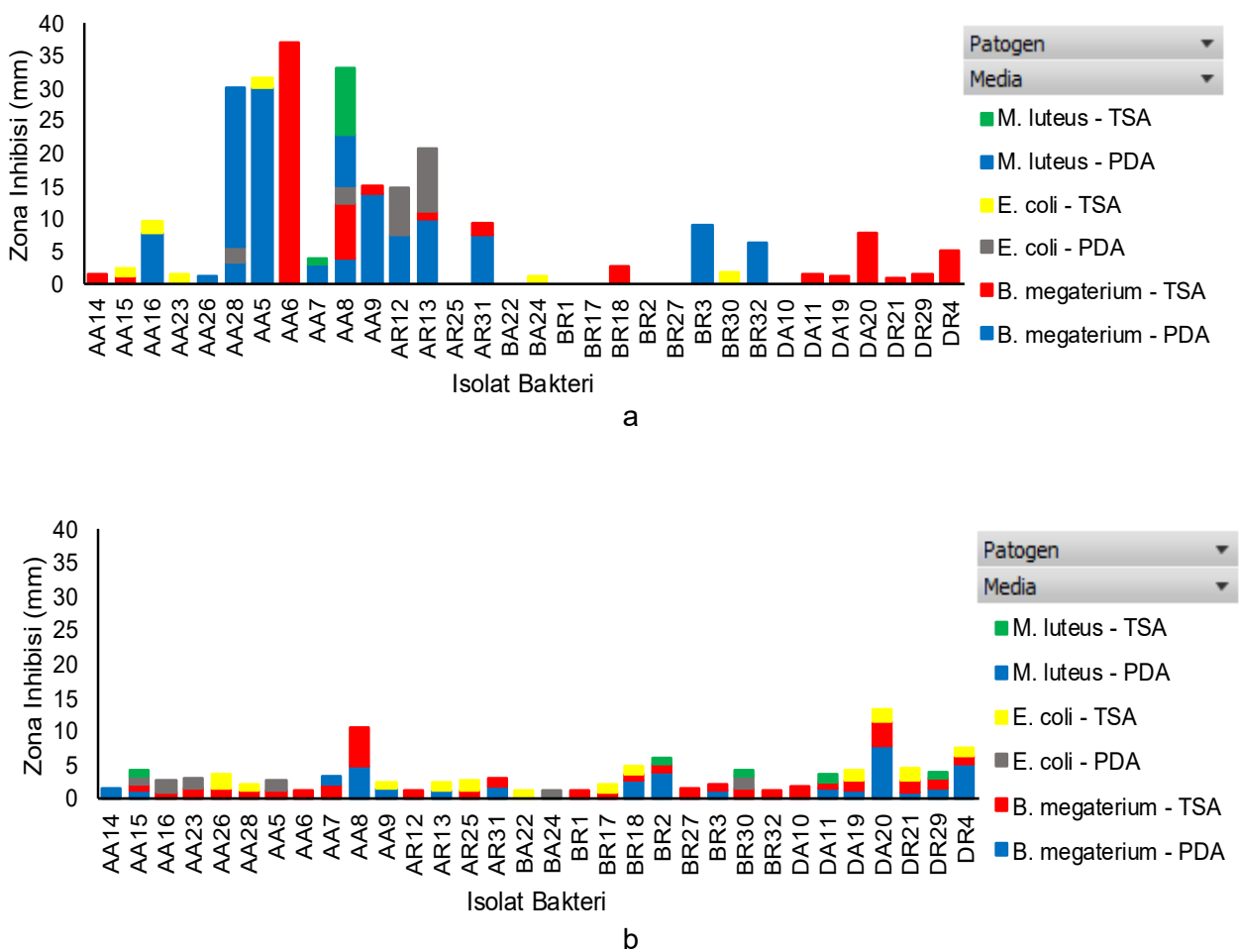
Kode	Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri					
	Ukuran	Pigmentasi	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Tepian
BR1	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Umbonate</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
BR2	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
BR3	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Umbonate</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
DR4	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Serrate</i>
AA5	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Lobate</i>
AA6	<i>Small</i>	<i>Kuning</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Serrate</i>
AA7	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
AA8	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
AA9	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
DA10	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Lobate</i>
DA11	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
AR12	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
AR13	<i>Moderate</i>	<i>Kuning</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Lobate</i>
AA14	<i>Moderate</i>	<i>Kuning</i>	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	Mengkilap Halus	<i>Entire</i>
AA15	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Serrate</i>
AA16	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
BR17	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Entire</i>
BR18	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Kasar	<i>Lobate</i>
DA19	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Umbonate</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
DA20	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
DR21	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	kasar	<i>Filamentous</i>
BA22	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
AA23	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Entire</i>
BA24	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
AR25	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Lobate</i>
AA26	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
BR27	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Kasar	<i>Lobate</i>
AR28	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Entire</i>
DR29	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>
BR20	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap	<i>Lobate</i>
AR31	<i>Small</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	Kasar	<i>Serrate</i>
BR32	<i>Large</i>	<i>Cream</i>	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	Halus Mengkilap	<i>Undulate</i>

Keterangan: 1-32 = Kode Isolat Bakteri

Pengamatan morfologi karakterisasi terhadap 32 isolat bakteri meliputi ukuran, pigmentasi/warna, bentuk, elevasi, permukaan, serta margin dari isolat bakteri. Berdasarkan pengamatan karakterisasi mikroskopik koloni bakteri dari tanaman mangrove jenis *Avicennia sp.* dan *Rhizophora sp.*, dapat diamati karakteristik bakteri yang memiliki beberapa perbedaan dari setiap isolat pada Tabel 1. Karakteristik isolat dengan ukuran *small* dan *moderate*, warna *cream*, bentuk *irregular*, elevasi *flat*, permukaan halus mengkilap, margin *undulate* dan *entire* mendominasi dari keseluruhan bakteri sampel. Hasil penelitian ini sejalan dengan Yanti *et al.*, (2021), bahwa isolat *Avicennia sp.* secara mikroskopis memiliki kesamaan karakter dengan *Neisseria* yaitu bentuk *circular*, elevasi *convex*, tepian *entire*, permukaan halus dan berwarna putih. Namun, walaupun memiliki kemiripan karakteristik belum tentu bakteri tersebut sejenis (Ariyanti & Arsita 2023).

Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan Gambar 2 dan diketahui hasil uji antibakteri dari 32 isolat, didapatkan bahwa keseluruhan isolat mampu memproduksi zona inhibisi pada bakteri patogen *E. coli*, *M. luteus*, atau *B. megaterium* dengan kategori lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Zona inhibisi tersebut mengindikasikan bahwa isolat bakteri memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Zona inhibisi berfungsi sebagai ekspresi sifat antagonisme terhadap bakteri patogen. Terbentuknya zona inhibisi disebabkan karena senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit menghambat pertumbuhan sel bakteri patogen. Senyawa bioaktif bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, atau menghambat aktivitas enzim. Aktivitas senyawa ini dapat menyebabkan perubahan pada dinding sel bakteri patogen, yang mengakibatkan lisis. Prinsipnya, senyawa ini menyebabkan perubahan permeabilitas membran sitoplasma pada bakteri yang diuji, menyebabkan kebocoran nutrisi dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim bakteri patogen. Penghambatan kerja enzim bakteri patogen mengakibatkan denaturasi protein sel dan kerusakan pada sistem metabolisme sel, yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri patogen (Wisti *et al.*, 2014). Pengaruh senyawa bioaktif terhadap bakteri patogen memiliki perbedaan, jika hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen maka zona inhibisi yang dihasilkan tidak sepenuhnya bening dan masih menyisakan bakteri patogen (*Bacteriostatic*). Sebaliknya, jika mampu membunuh bakteri patogen maka zona inhibisi yang dihasilkan bening dan tidak ada bakteri patogen yang tumbuh (*Bacteriocidal*) (Kazimierczak *et al.*, 2022).



Gambar 2. Hasil uji antibakteri menggunakan metode (A) *Agar plug* dan (B) *Kertas Cakram*

Isolat AA5T dan AA28P merupakan isolat potensial yang mampu menghasilkan zona inhibisi dengan kategori sangat kuat, yaitu sebesar 37,35 mm terhadap *B. megaterium* dan 24,5 mm terhadap *M. luteus* pada metode *agar plug*. Ukuran diameter zona inhibisi yang terbentuk dapat dipengaruhi beberapa faktor, mulai dari konsentrasi bakteri sampel, daya difusi, jenis bakteri, senyawa yang dihasilkan, kepekaan pertumbuhan, kerapatan koloni, hingga waktu inkubasi (Wulanjati *et al.*, 2020). Selain itu, diameter zona inhibisi isolat bakteri endofit terhadap bakteri *B. megaterium* dan *M. luteus* lebih besar daripada *E. coli*, hal ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel antara bakteri patogen tersebut. Dalam penelitian (Malanovic & Lohner 2016), struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan Gram negatif, Gram positif hanya tersusun atas peptidoglikan, lipid 2%, dan asam teikoat. Dinding sel Gram negatif tersusun dari peptidoglikan, lipid 20%, protein dan lipid bilayer sebagai membran luar serta fosfolipid dan lipopolisakarida merupakan penyusun lapisan dalam. Struktur dinding sel bakteri Gram positif yang lebih sederhana membuat senyawa bioaktif bakteri endofit lebih mudah terdifusi ke dalam sel dan lebih rentan terhadap senyawa antibakteri daripada bakteri Gram negatif (Naibaho *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil uji, terdapat isolat yang tidak menghasilkan zona inhibisi. Melalui penelitian Damayanti *et al.* (2022), menduga bahwa tidak adanya hasil positif pada aktivitas antimikroba disebabkan oleh ketidakmampuan isolat untuk menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Perbedaan media kultur menyebabkan perubahan pada zona inhibisi yang diproduksi. Perubahan tersebut dapat berupa aktif atau *inactive* dan penurunan atau kenaikan pada zona inhibisi. Hal tersebut terjadi karena kandungan nutrisi yang berbeda pada media TSA dan PDA. Pada media TSA nutrisi yang disediakan berupa *peptone* dari *casein* dan *soy*, *sodium chloride*, dan agar (Maryani *et al.*, 2020) sedangkan pada PDA nutrisi yang disediakan berupa *potato extract*, *dextrose*, dan agar (Azzahra *et al.*, 2020). Dapat diketahui, suplai nutrisi dari media TSA berasal dari *peptone* yang merupakan turunan protein sedangkan pada PDA suplai nutrisi berasal dari ekstrak kentang sebagai sumber karbohidrat. Perbedaan suplai nutrisi tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan dan senyawa bioaktif yang dihasilkan (Davis *et al.*, 2005). Efektivitas media TSA ataupun PDA akan berbeda pada hampir semua isolat, kecuali isolat AR13 yang memiliki zona inhibisi yang sama pada 2 media. Perbedaan efektivitas ini disebabkan kecocokan nutrisi yang berbeda karena karakteristik bakteri yang beragam sehingga mempengaruhi metabolisme bakteri (Nafriion *et al.*, 2019). Hal ini sesuai dengan penelitian Zulkifli, Jekti and Bahari, (2018), yang menguji aktivitas antibakteri dari isolat yang ditumbuhkan dalam media TSA dan NA. Dilaporkan bahwa zona inhibisi yang diproduksi lebih aktif pada media NA daripada TSA karena perbedaan nutrisi yang disediakan.

Berdasarkan hasil uji antibakteri menggunakan metode *agar plug* dan difusi kertas cakram diketahui kemampuan senyawa bioaktif yang diproduksi menggunakan metode kertas cakram dan supernatan lebih rendah dibandingkan menggunakan metode *agar plug*. Hal tersebut disebabkan karena beberapa hal, yaitu kemampuan difusi senyawa bioaktif, dan lama waktu inkubasi. Penggunaan kertas cakram akan mempengaruhi proses difusi senyawa bioaktif terhadap media sehingga ukuran diameter akan semakin mengecil. Selain itu, lamanya waktu inkubasi untuk memperoleh supernatan akan mempengaruhi efektivitas senyawa bioaktif terhadap bakteri patogen (Lingga *et al.*, 2016). Hal ini sesuai dengan penelitian Queendy *et al.* (2019), yang melakukan screening aktivitas antimikroba dari isolat Actinomycetes terhadap jamur menggunakan metode *agar plug* dan kertas cakram. Diketahui, aktivitas antimikroba hanya aktif pada metode *agar plug* sedangkan pada kertas cakram tidak ada yang aktif.

Berdasarkan hasil pengujian, diketahui bahwa bagian akar *Avicennia* sp. memiliki efektivitas yang tinggi dalam memproduksi zona inhibisi melawan patogen dan paling reaktif terhadap *B. megaterium*. Hasil penelitian ini didukung penelitian Sarkar *et al.* (2022), yang menyatakan bahwa senyawa bioaktif *Avicennia marina* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap strain patogen yang diuji, termasuk yang resisten terhadap antibiotik. Penelitian ini menduga bahwa adanya kandungan fenolik yang tinggi akibat stres tanaman terhadap cuaca panas yang tinggi di kawasan mangrove pada bulan Agustus 2023. Pernyataan ini juga didukung Al-Mur (2021), dalam penelitiannya yang menyebutkan bahwa total fenolik dan total flavonoid dalam senyawa bioaktif dari akar menunjukkan

nilai yang jauh lebih tinggi (masing-masing 394,8 dan 175,9 mg/L) daripada daun (masing-masing 190,8 dan 21,7 mg/L) serta mampu secara efektif melawan bakteri patogen.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, bakteri endofit mangrove jenis *Avicennia* sp. dan *Rhizophora* sp memiliki potensi aktivitas antibakteri dengan potensi tertinggi pada akar *Avicennia* sp. Karakteristik morfologi dari isolat bakteri ini didominasi oleh ukuran *small* dan *moderate*, warna *cream*, bentuk *irregular*, elevasi *flat*, permukaan halus mengilap, margin *undulate* dan *entire*. Uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan membuktikan bahwa isolat bakteri mampu menghasilkan zona inhibisi secara optimal menggunakan metode difusi *agar plug*. Selain itu, perbedaan media akan berpengaruh terhadap zona inhibisi yang diproduksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Mur, B.A., 2021. Biological Activities of *Avicennia marina* Roots and Leaves Regarding Their Chemical Constituents. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 46(6):5407–5419. DOI: 10.1007/s13369-020-05272-1.
- Ariyanti, D. & Arsita, N., 2023. Isolasi dan Uji Daya Hambat Bakteri Endofit Alga Hijau (*Ulva lactuca*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thyphi*. *Jurnal Tambora*, 7(2):24–32. DOI: <https://doi.org/10.36761/jt.v7i2.2978>.
- Azzahra, N., Jamilatun, M. & Aminah, A., 2020. Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi *Carrot Sucrose Agar* dan *Potato Dextrose Agar*. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 4(1):168–174. DOI: 10.46638/jmi.v4i1.69.
- Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibsouda, S.K., 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71–79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Damayanti, E., Hamid, F. & Sjahril, R., 2022. Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah. *Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan*, 7(2):176. DOI: 10.30829/jumantik.v7i2.11266.
- Dat, T.T.H., Oanh, P.T.T., Tam, V.T.T., & Anh, H.L.T. 2019. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Bacterial Endophytes Isolated from Leaves of the Mangrove plant *Rhizophora stylosa*. *Academia Journal of Biology*, 41(4):91–99. DOI: 10.15625/2615-9023/v41n4.14675.
- Davis, K.E.R., Joseph, S.J. & Janssen:H., 2005. Effects of Growth Medium, Inoculum size, and Incubation Time on Culturability and Isolation of Soil Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2):826–834. DOI: 10.1128/AEM.71.2.826-834.2005.
- Deepika, V.B., Murali, T.S. & Satyamoorthy, K., 2016. Modulation of Genetic Clusters for Synthesis of Bioactive Molecules in Fungal Endophytes: A Review. *Microbiological Research*, 182(October):125–140. DOI: 10.1016/j.micres.2015.10.009.
- Friess, D.A., 2016. Ecosystem Services and Disservices of Mangrove Forests: Insights from Historical Colonial Observations. *Forests*, 7(9). DOI: 10.3390/f7090183.
- Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H. S., & Patra, J. K. 2016. Endophytes: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal Importance. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP):1–8. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01538.
- Huslina, F. & Harahap, D., 2019. Isolasi Bakteri Pengikat Nitrogen dengan Menggunakan Media Jensen. *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2):91. DOI: 10.31764/agrotek.v6i2.1238.
- Kazimierczak, P., Golus, J., Kolmas, J., Wojcik, M., Kolodynska, D., & Przekora, A. 2022. Noncytotoxic Zinc-Doped Nanohydroxyapatite-Based Bone Scaffolds with Strong Bactericidal, Bacteriostatic, and Antibiofilm Activity. *Biomaterials Advances*, 139(May):213011. DOI: 10.1016/j.bioadv.2022.213011.
- Kushkevych, I., Kovářová, A., Dordevic, D., Gaine, J., Kollar, P., Vítězová, M., & Rittmann, S. K. M. R. 2021. Distribution of Sulfate-Reducing Bacteria in the Environment: Cryopreservation Techniques and their Potential Storage Application. *Processes*, 9(10):1–21. DOI: 10.3390/pr9101843.
- Lingga, A.R., Pato, U. & Rossi, E., 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Kecombrang. *JOM Faperta*, 3(1):1–15.

- López-Jácome, E., Franco-Cendejas, R., Quezada, H., Morales-Espinosa, R., Castillo-Juárez, I., González-Pedrajo, B., Fernández-Presas, A. M., Tovar-García, A., Angarita-Zapata, V., Licon-Limón, P., Martínez-Vázquez, M., & García-Contreras, R. 2019. The Race Between Drug Introduction and Appearance of Microbial Resistance. Current Balance and Alternative Approaches. *Curr Opin Pharmacol*, 48:48–56. DOI: 10.1016/j.coph.2019.04.016.
- Malanovic, N. & Lohner, K., 2016. Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria. *Pharmaceuticals*, 9(59):1–33. DOI: 10.3390/ph9030059.
- Mamangkey, J., Suryanto, D., Munir, E., Mustopa, A. Z., Sibero, M. T., Mendes, L. W., Hartanto, A., Taniwan, S., Ek-Ramos, M. J., Harahap, A., Verma, A., Trihatmoko, E., Putranto, W. S., Pardosi, L., & Rudia, L. O. A. P. 2021. Isolation and Enzyme Bioprospection of Bacteria Associated to *Bruguiera cylindrica*, a Mangrove Plant of North Sumatra, Indonesia. *Biotechnology Reports*, 30:e00617. DOI: 10.1016/j.btre.2021.e00617.
- Maryani, Monalisa, S.S. & Panjaitan, R.S., 2020. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* Pada Uji In Vitro. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 10(2):196–208. DOI: <http://dx.doi.org/10.33512/jpk.v10i2.9218>.
- Moloney, M.G., 2016. Natural Products as a Source for Novel Antibiotics. *Cell Press*, 37(8):689–701. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.05.001>.
- Nafrión, N., Putri, D.H. & Irdawati, I., 2019. Optimization of Medium Fermentation for Production of Antimicrobial Compounds by Endofit Bacteria Andalas Plant (*Morus macroura* Miq.) B.J.T.A-6 Isolate. *Bioscience*, 3(1):79–84. DOI: 10.24036/0201931102865-0-00.
- Naibaho, J., Bobak, Ł., Pudło, A., Wojdyło, A., Andayani, S. N., Pangestika, L. M. W., Korzeniowska, M., & Yang, B. 2023. Chemical Compositions, Antioxidant Activities and Techno-Functionality of Spent Grain Treated by Autoclave Treatment: Evaluation of Water and Temperature Levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(4):2130–2140. DOI: 10.1111/ijfs.16042.
- Niu, G. & Li, W., 2019. Next-Generation Drug Discovery to Combat Antimicrobial Resistance. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(11):961–972. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.05.005>.
- Nofiani, R., Rizky, Brilliantoro, R., & Ardiningsih, P. 2022. Anti-Bacteria and Toxicity Potential of a Rare Actinobacterium *Pseudonocardia* sp. SM1A, Isolated from Mangrove Park, West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(1):453–458. DOI: 10.13057/biodiv/d230148.
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. & Hidayatulloh, A., 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41–46. DOI: 10.24198/jthp.v1i2.27537.
- Oktafiyanto, M.F., Munif, A. & Mutaqin, K.H., 2018. Aktivitas Antagonis Bakteri Endofit Asal Mangrove terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne* spp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 14(1):23. DOI: 10.14692/jfi.14.1.23.
- Queendy, V., Roza, R.M. & Roza, R.M., 2019. Aktivitas Antifungi Isolat Aktinomisetes Arboretum Universitas Riau Terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* dan *Ganoderma boninense*. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 12(1):73–88. DOI: 10.15408/kaunyah.v12i1.8793.
- Rau, C.H., Yudistira, A. & Simbala, H.E.I., 2018. Isolasi, Identifikasi secara Molekuler menggunakan Gen 16s rRNA, dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Symbion Endofit yang diisolasi dari Alga *Halimeda opuntia*. *Pharmakon*, 7(2):53–61. DOI: 10.35799/pha.7.2018.19509.
- Ravikumar, A., Arzumanyan, G.A., Obadi, M.K.A., Javanpour, A.A., & Liu, C.C. 2018. Scalable, Continuous Evolution of Genes at Mutation Rates above Genomic Error Thresholds. *Cell*, 175(7):1946-1957.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2018.10.021.
- Riyanti, Zumkeller, C.M., Spohn, M., Mihajlovic, S., Schwengers, O., Goesmann, A., Choironi, N.A., Schäberle, T.F., & Harwoko, H. 2023. Draft Genome Sequences of *Algoriphagus* sp. Strain PAP.12 and *Roseivirga* sp. Strain PAP.19, Isolated from Marine Samples from Papua, Indonesia. *Microbiology Resource Announcements*, 2(4):4–6. DOI: 10.1128/mra.01264-22.
- Sarkar, R.K., Bhowmik, M., Biswas Sarkar, M., Sircar, G., & Bhattacharya, K. 2022. Comprehensive Characterization and Molecular Insights into the Salt Tolerance of a Cu, Zn-Superoxide Dismutase from an Indian Mangrove, *Avicennia marina*. *Scientific Reports*, 12(1):1–15. DOI: 10.1038/s41598-022-05726-6.

- Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., & Singh, N. 2016. Bioactive Compounds in Banana and Their Associated Health Benefits – A review. *Food Chemistry*, 206:1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.033>.
- Sousa, K.K.A., Camargo, R. da S., Forti, L.C., & Caldato, N. 2018. Effects of Cycloheximide on The Mortality of *Atta Sexdens* Leaf-Cutting Worker Ants. *Revista Brasileira de Entomologia*, 62(3):169–171. DOI: 10.1016/j.rbe.2018.04.002.
- Steven, R., Humaira, Z., Natanael, Y., Dwivany, F.M., Trinugroho, J. P., Dwijayanti, A., Kristianti, T., Tallei, T. E., Emran, T. Bin, Jeon, H., Alhumaydhi, F.A., Radjasa, O.K., & Kim, B. 2022. Marine Microbial-Derived Resource Exploration: Uncovering the Hidden Potential of Marine Carotenoids. *Marine Drugs*, 20(6):1–18. DOI: 10.3390/md20060352.
- Trotter, J.H., Hao, J., Maxeiner, S., Tsetsenis, T., Liu, Z., Zhuang, X., & Südhof, T.C. 2019. Synaptic Neurexin-1 Assembles into Dynamically Regulated Active Zone Nanoclusters. *Journal of Cell Biology*, 218(8):2677–2698. DOI: 10.1083/JCB.201812076.
- Ullah, I., Khan, M.S., Khan, S.S., Ahmad, W., Zheng, L., Shah, S.U.A., Ullah, M., & Iqbal, A. 2021. Identification and Cracterization of Thermophilic Amylase Producing Bacterial Isolate from The Brick Kiln Soil. *Saudi Journal of Biological Science*, 28:970–979.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10):1–28. DOI: 10.3390/microorganisms9102041.
- Wang, M., Bai, Z., Liu, S., Fu, B., Liu, Y., Wang, Z., Zhou, G., Gong, X., Jiang, Y., & Siu, Z. 2023. Rapid and Universal Quantification of Viable Bacteria with Growth Activity in Raw Milk Using a Fluorescent d-Amino Acid-Flow Cytometry (FDAA-FCM) Method. *LWT - Food Science and Technology*, 184:114–998. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114998>.
- Wisti, A., Yusmarini & Rahmayuni, 2014. Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari Susu Kedelai Terfermentasi Spontan. *JOM Faperta*, 1(2):33–37.
- Wulanjati, M.P., Indrianingsih, A.W., Darsih, C., Apriyana, W., & Batrisya. 2020. Antioxidant and Antibacterial Activity of Ethanolic Extract from *Ulva* sp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462(1). DOI: 10.1088/1755-1315/462/1/012028.
- Yanti, G., Jamarun, N. & Elihasridas, E., 2021. Pengaruh Perebusan Daun Mangrove (*Avicennia marina*) dengan Air Abu Sekam terhadap Kecernaan Fraksi Serat (NDF, ADF, Selulosa, dan Hemiselulosa) Secara In-Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 23(2):168. DOI: 10.25077/jpi.23.2.168-173.2021.
- Zulkifli, L., Jekti, D.S.D. & Bahari, S., 2018. Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Endofit Kulit Batang Srikaya (*Annona squamosa*) dan Potensinya sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan*, 4(2):123–133. DOI: 10.29303/jppipa.v4i1.98.