



ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA PRODUCING ANTIBIOTIC COMPOUNDS FROM THE RHIZOSPHERE OF AVICENNIA MARINA AGAINST PATHOGENIC BACTERIA IN THE MANGROVE ECOSYSTEM AREA OF WEST KALIMANTAN

Yuyun Nisaul Khairillah^{1*}, Hasria Alang², Haryanto³, Fitriagustiani⁴, Indri Erwhani⁵, Ditha Astuti Purnamawati⁶, Annisa Rahmawati⁷, Surtikanti⁸, Adelia Triwahyuni⁹

^{1,2,9} Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat, Indonesia

^{3,5,6,7,8} Program Keperawatan, Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat, Indonesia

⁴ Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi Bacharuddin Jusuf Habibie, Indonesia

Email: yuyunkhairillah@itekesmukalbar.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.12527>

Submit: 12-07-2024; Revised: 29-07-2024; Accepted: 30-07-2024; Published: 30-12-2024

ABSTRAK: Resistensi antibiotik merupakan permasalahan global yang ada pada bidang kesehatan. Adanya tingkat resistensi antibiotik yang terjadi dapat disebabkan oleh adanya beberapa faktor yang mempengaruhi, diantaranya terdapat 6 isolat bakteri *rhizosfer* yang berhasil di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *Avicennia marina*. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengisolasi dan mengetahui konsentrasi hambat minimum terbaik dari bakteri *rhizosfer* tanaman *A. marina* serta efektivitasnya dalam menghambat bakteri patogen *S. aureus*. Studi ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode isolasi dan karakterisasi bakteri *rhizosfer*, uji anatagonistik bakteri *rhizosfer* dan uji hasil ekstraksi filtrat kultur bakteri *rhizosfer* tanaman *A. marina*. Hasil dari penelitian ini yaitu (1) lima dari isolat bakteri yang berhasil di isolasi termasuk dalam jenis *Bacillus* dan 1 isolat bakteri termasuk jenis *Cocobasil*; (2) ada 3 dari 6 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* dengan kisaran hambatan antara 10.04-4.42 mm; (3) isolat bakteri *Rhizosfer* (TN 1) merupakan isolat dengan diameter penghambatan yang paling baik dan terkatagori kuat yaitu 10.04 mm; (4) ekstrak etil asetat filtrat kultur isolat bakteri *Rhizosfer* (TN 1), memiliki konsentrasi hambat minimum sebesar 0.50% terhadap bakteri patogen *S. aureus* dengan diameter penghambatan 7.18 mm lebih baik bila dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan kloramfenikol.

Kata Kunci: bakteri *rhizosfer*, senyawa aktif, patogen

ABSTRACT: Antibiotic resistance is a global problem in the health sector. The level of antibiotic resistance that occurs can be caused by several influencing factors, including 6 isolates of rhizosphere bacteria that were successfully isolated from the rhizosphere of the *Avicennia marina* plant. The purpose of this study was to isolate and determine the best minimum inhibitory concentration of rhizosphere bacteria of the *A. marina* plant and its effectiveness in inhibiting pathogenic bacteria *S. aureus*. This study is a quantitative research method using the isolation and characterization of rhizosphere bacteria, antagonistic test of rhizosphere bacteria and test of the results of the extraction of filtrate of rhizosphere bacteria culture of *A. marina* plants. The results of this study were (1) five of the isolates of bacteria that were successfully isolated were included in the *Bacillus* type and 1 isolate of bacteria included in the *Cocobasil* type; (2) there were 3 of the 6 isolates that could inhibit the growth of pathogenic bacteria *S. aureus* with an inhibition range of 10.04-4.42 mm; (3) Rhizosphere bacterial isolate (TN 1) is an isolate with the best inhibition diameter and is categorized as strong, namely 10.04 mm; (4) ethyl acetate extract of Rhizosphere bacterial isolate culture filtrate (TN 1), has a minimum inhibitory concentration of 0.50% against pathogenic bacteria *S. aureus* with an inhibition diameter of 7.18 mm which is better when compared to the positive control using chloramphenicol.

Keywords: active compounds, rhizosphere bacteria, pathogen



How to Cite: Khairillah, Y., Alang, H., Haryanto, H., Fitriagustiani, F., Erwhani, I., Purnamawati, D., Rahmawati, A., Surtikanti, S., & Triwahyuni, A. (2024). Isolation and Identification of Bacteria Producing Antibiotic Compounds from The Rhizosphere of *Avicennia Marina* Against Pathogenic Bacteria in The Mangrove Ecosystem Area of West Kalimantan. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(2), 1679-1691. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.12527>



Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan salah satu produk hasil organisme baik berupa bakteri maupun fungi yang memiliki banyak manfaat. Salah satunya yaitu antibiotik digunakan dalam proses menghambat atau membunuh bakteri patogen dalam konsentrasi dan tingkat toksisitas yang rendah terhadap tubuh manusia. Dewasa ini adanya permasalahan dari resistensi antibiotik merupakan permasalahan global yang ada pada bidang kesehatan. Menurut Data Kementerian Kesehatan tahun 2021, Indonesia termasuk dalam peringkat ke- 8 dengan tingkat resistensi (kekebalan) terhadap beberapa jenis bakteri yang tergolong dalam *Multidrug Resistance* (MDR), dari 27 negara dan berdasarkan dari data *World Health Organization* (WHO) tahun 2009 (Kemenkes RI, 2013).

Data *European Centre for Disease Prevention and Control* pada tahun 2012, menunjukkan adanya peningkatan resistensi antibiotik dan seiring berjalannya waktu beberapa jenis bakteri telah mengalami adanya resistensi terhadap beberapa jenis golongan obat tertentu. Diketahui data kejadian *Multi Drugs Resisten* (MDR) terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun terkhusus pada golongan bakteri Gram negatif. Adanya tingkat resistensi antibiotik yang terjadi dapat disebabkan oleh adanya beberapa faktor yang mempengaruhi diantaranya ialah penggunaan antibiotik yang berlebihan, kurangnya pemahaman dan edukasi masyarakat tentang penggunaan antibiotik, antibiotik yang bebas diperjual belikan di masyarakat serta kurangnya pengawasan penggunaan antibiotik yang tepat sasaran khususnya di masyarakat (Tenebro *et al.*, 2021).

Adanya tingkat resistensi antibiotik yang ada dapat menyebabkan berkurangnya tingkat efektivitas dan sensitifitas antibiotik yang digunakan sehingga menyebabkan bakteri semakin kebal terhadap beberapa jenis golongan obat yang beredar di masyarakat. Hal ini menyebabkan beberapa jenis bakteri mengalami kekebalan yang berdampak pada tingkat mortalitas dan morbiditasnya (Romano *et al.*, 2022). Resistensi antibiotik juga menyebabkan adanya beberapa jenis bakteri menjadi lebih resisten karena menghasilkan gen resisten yang diperoleh dari proses mutasi atau pertukaran antar plasmid pada spesies bakteri yang sama (Pratiwi, 2017).

Data *World Health Organization* (WHO), menyebutkan terdapat 30 jenis penyakit infeksi yang disebabkan oleh adanya beberapa dari strain bakteri yang telah mengalami mutasi dan resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik yang ada (Ibrahim *et al.*, 2023). Upaya dalam eksplorasi bakteri untuk mendapatkan jenis antibiotik jenis baru dalam mengatasi tingkat resistensi antibiotik yang ada terus dilakukan. Antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri umumnya digunakan dalam



proses terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Oleh karena itu, diperlukannya sumber galur antimikroba jenis baru yang dapat mengatasi tingkat resistensi antibiotik yang ada. Selain itu juga dengan adanya galur baru antimikroba jenis baru dapat dijadikan sebagai sumber alternatif dalam mengatasi tingkat resistensi yang ada. Salah sumber alternatif dalam mengatasi tingkat resistensi yang ada. Terkhusus eksplorasi beberapa jenis bakteri sumber antibiotik jenis baru yang berasal dari tanah (*Rhizobacterium*) yang tumbuh pada bagian *rhizosfer*. Diketahui *Rhizosfer* merupakan sustansi yang memiliki populasi terbesar penghasil senyawa antibakteri (Thirunavukkarasu *et al.*, 2014).

Rhizosfer merupakan suatu lapisan yang mneyelimuti permukaan akar pada tanaman dan menjadi tempat tinggal atau habitat dari berbagai jenis organisme yang ada seperti bakteri dan fungi. Pada bagian *rhizosfer* akan mendukung dari bertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme yang ada didalamnya karena *rhizosfer* mengandung berbagai bahan organik yang membantu dalam proses pertumbuhan mikroba (Richter *et al.*, 2020). Diketahui beberapa jenis bakteri *rhizosfer* yang sering ditemukan antara lain *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Rhizobia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, dan *Bacillus*. Beberapa jenis bakteri ini diketahui memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat menghambat dan membunuh beberapa jenis bakteri patogen. Kelompok bakteri *Actinobacteria* dan *Pseudomonas* merupakan kelompok bakteri yang sangat melimpah keberadaannya dan paling banyak ditemukan pada bagian *rhizosfer*. Selain itu juga penelitian lain mneunjukkan bahwa genus *Streptomyces* merupakan salah satu jenis bakteri *rhizosfer* yang memiliki kandidat utama dalam pengembangan antibiotik jenis baru. Bakteri genus *Streptomyces* termasuk kedalam jenis bakteri Gram positif yang memiliki kandungan senyawa aktif berupa asam amino, gula, senyawa aromatik, alkohol. Serta beberapa jenis bakteri dari genus ini juga menghasilkan enzim hidrolitik ekstrak seluler (Siregar *et al.*, 2012). Bakteri *Streptomyces* diketahui memiliki berbagai kandungan aktif dan memiliki kemampuan dalam mengeksresi senyawa antibiotik pada berbagai tipe habitat hidup yang berbeda. Salah satu jenis habitat potensial dalam penghasil antibiotik yang tinggi yaitu pada ekosistem mangrove (Piotrowska *et al.*, 2017). Diketahui beberapa jensi bakteri *Steptomycetes* yang di isolasi dari sedimen ekosistem mangrove memiliki senyawa dan aktivitas sebagai antibiotik (Sabido *et al.*, 2020).

Penelitian bakteri sebagai kandidat antibiotik umumnya telah banyak dikembangkan. Namun untuk penelitian mengenai bakteri penghasil antibiotik yang bersumber dari *rhizosfer* kawasan mangrove, khususnya pada tanaman *Avicennia marina*, Kalimantan Barat belum dilakukan. Oleh karena itu, perlu untuk mencari sumber keragaman antibiotik jenis baru yang dijadikan kandidat pengembangan antibiotik potensial jenis baru yang bersumber dari *A. marina* khususnya di Kalimantan Barat. Selain itu juga dengan adanya bakteri penghasil antibiotik yang bersumber dari *rhizosfer* kawasan mangrove, khususnya pada tanaman *Avicennia marina*, Kalimantan Barat diharapkan dapat mengatasi tingkat resistensi antibiotik terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang ada.



METODE

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang dilaksanakan di Laboratorium terpadu Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat, untuk mengisolasi, karakterisasi morfologi dan uji pewarnaan Gram, uji antagonistik, uji filtrat kultur dan ekstraksi filtrat kultur bakteri *rhizosfer* tanaman *Avicennia marina* untuk mengetahui potensi senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri *rhizosfer* sebagai antimikroba. Sampel penelitian berupa tanah perakaran *rhizosfer* tanaman *Avicennia marina* berasal dari Kawasan Mangrove, Desa Sungai Kupah, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Tanah yang akan dijadikan sampel penelitian merupakan tanah yang masih menempel pada sekitar perakaran tanaman *Avicennia marina*. Prosedur Penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Isolasi Bakteri Penghasil Antibiotik dari Rhizosfer Tanaman Avicennia marina

Sampel *Rhizosfer* dari tanaman *Avicennia marina* sebanyak 10 gram dihaluskan menggunakan alu dan mortal secara aseptis menggunakan LAF. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian sampel dihomogenasikan ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis steril (NaCl 0.98 %). Kemudian dilakukan proses pengenceran serial sampai seri pengenceran sampai 10^{-5} . Suspensi sampel tersebut diambil sebanyak 10 ml lalu dituangkan kedalam media NA dengan cara spread dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah bakteri bertumbuh bakteri kemudian dipurifikasi. Purifikasi dilakukan dengan cara menggoreskan isolat bakteri keatas media agar dengan metode kuadran. Sesudah itu koloni bakteri yang akan diidentifikasi molekuler dipindahkan pada media agar miring (Fitriyani & Huyyirna, 2020).

Karakterisasi Bakteri Penghasil Antibiotik dari Rhizosfer Tanaman Avicennia marina

Pengamatan koloni bakteri yang terbentuk dari proses isolasi bakteri berdasarkan kemampuan dalam menghambat mikroba uji yang menghasilkan zona bening di amati pengamatan morfologinya. Isolat tunggal yang diperoleh selanjutnya diamati morfologi koloninya secara makroskopis dengan parameter warna, permukaan, bentuk koloni, tepian koloni, elevasi, dan konsistensi (Sessitsch *et al.*, 2004).

Uji Patogenitas Bakteri Potensial dari Rhizosfer Tanaman Avicennia marina

Pengujian aktivitas antibiotik bakteri potensial dilakukan dengan metode modifikasi Kirby Bauer pada media NA. Bakteri potensial antibiotik yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *Avicennia marina*, sebanyak 1 ose dimasukkan ke dalam medium NB dan di inkubasi pada suhu 28 °C selama 24 jam, kemudian di shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Setelah 24 jam sebanyak 1 ml isolat bakteri potensial dimasukkan ke dalam tabung eppendorf kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 20 menit. Isolat di uji pada *paper dish* pada medium NA dan PDA yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji Gram positif dan Gram negatif. Kontrol positif menggunakan kloramphenikol dan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Setelah 24 jam amati zona hambat hambat yang terbentuk di tandai dengan adanya *clear zone* pada medium uji (Sessitsch *et al.*, 2004).

Ekstraksi Senyawa Antibiotik Bakteri Potensial dari Rhizosfer Tanaman *Avicennia marina*

Biakan murni diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media NA. Kemudian biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam kemudian disuspensikan dengan 2,5 ml larutan NaCl dan diinokulasikan kedalam media NB sebanyak 1000 ml kedalam erlenmeyer, lalu dikocok menggunakan shaker *incubator* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 28 °C selama 3 hari. Ekstraksi senyawa antibiotik hasil dari fermentasi tersebut di sentrifugasi yang bertujuan untuk memisahkan pellet dan supernatannya dengan menggunakan sentrifugasi kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan diekstraksi dengan cara menambahkan etil asetat (1:1) lalu diinkubasi selama 1x24 jam. Larutan supernatan tersebut dievaporasi dan dikering anginkan sehingga didapatkan hasil ekstrak (Piotrowska *et al.*, 2004)

Uji Aktivitas Antibiotik Ekstrak Filtrat Bakteri Potensial Rhizosfer Tanaman *Avicennia marina*

Metode yang digunakan yaitu metode difusi agar (*disc diffusion*) dengan menggunakan medium NA. Aktivitas penghambatannya diuji terhadap isolat bakteri Gram positif dan Gram negatif yang digunakan sebagai mikroorganisme uji. Pada pengujian aktivitas antibiotik menggunakan kertas cakram yang masing-masing berukuran 6 mm. Ekstrak dari supernatan tersebut dilarutkan dengan menggunakan pelarut DMSO. Diambil suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml kemudian diinokulasikan kedalam media dan dihomogenkan. Media yang telah diinokulasi mikroba tersebut dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 30 mL dan ditunggu hingga memadat, langkah selanjutnya yaitu meletakkan kertas cakram diatas media dan meneteskan sebanyak 20 µL hasil dari masing-masing ekstrak, serta ditetesi larutan DMSO sebagai kontrol negatif sedangkan pengujian kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol. Langkah terakhir pada pengamatan ini yaitu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C dan dilakukan pengamatan serta diukur zona hambat yang terbentuk (Piotrowska *et al.*, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Bakteri Rhizosfer Isolate Rhizosfer Pada Kawasan Ekosistem Mangrove Desa Sungai Kupah

Sampel *rhizosfer* mangrove diambil dari kawasan ekosistem mangrove Desa Sungai Kupah, Pontianak, Kalimantan Barat yang secara geografis lokasi ini terletak pada garis khatulistiwa 109° 10'8" – 109°10'40" Bujur Timur (BT) dan 0° 1'36"-0° 2'8" Lintang Selatan (LS). Kawasan ekosistem mangrove ini ditumbuhi oleh 8 jenis vegetasi yaitu *Avecenia* sp, *Pidada* sp, *Rhizophora* sp, *Bruguiera* sp, *Xylocarpus* sp, *Lumnitzera littorea*, *Nypa fruticans*, *Excoecaria agallocha*. Sampel *rhizosfer* yang di ambil merupakan sampel *rhizosfer* yang berada di dekat perakaran tanaman *Avecenia marina* dengan karakter *rhizosfer* agak berlumpur dan berwarna hitam. Kawasan ekosistem mangrove Desa Sungai Kupah memiliki rata – rata suhu 29° C, Kelembapan udara 60 %, Kecepatan angin 10 km/jam. Sedangkan pH pada lokasi penelitian untuk lingkungan ekosistem mangrove terolong asam dan basah pada titik tertentu, berkisar antara 6,2 – 7,8.



Kawasan ekosistem mangrove Desa Sungai Kupah memiliki tekstur campuran tanah berupa aluvial berupa tanah endapan yang di bentuk dari lumpur dan lanau berpasir (Muhardianshah *et al.*, 2021). Pengambilan sampel tanah *rhizosfer* tanaman *A. marina* menggunakan metode *purposive sampling*. Sampel tanah *rhizosfer* tanaman *A. marina* diambil pada kedalaman 30 cm pada lima titik secara acak dan berbeda kemudian dilakukan proses pengkompositan (Sukoco *et al.*, 2020). Tanaman *A. marina* yang digunakan sebagai sampel penelitian untuk isolasi bakteri *rhizosfer* merupakan tanaman yang sehat dan tidak memiliki gejala penyakit.

Pemilihan sampel penelitian yang baik bertujuan untuk mendapatkan hasil isolasi bakteri *rhizosfer* dari tanaman *A. marina* yang nantinya akan digunakan sebagai seleksi awal untuk mendapatkan berbagai jenis bakteri *rhizosfer* yang memiliki potensial sebagai senyawa antibiotik. Adapun tanaman *A. marina* yang di pilih merupakan tanaman sehat dengan usia dewasa. Pemilihan kriteria tanaman yang dewasa dimaksudkan bakteri *rhizosfer* umumnya. Bakteri *rhizosfer* dapat ditemukan di bagian jaringan vaskuler dalam tanaman inang (Basumatary, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian isolasi dan identifikasi bakteri *rhizosfer A. marina* di kawasan ekosistem mangrove Desa Sungai Kupah, Kalimantan Barat di peroleh enam isolat yang di isolasi dari lima titik berbeda yaitu dengan kode isolat TN1, TN2, TN3, TN4, TN5, dan TN6. Keenam isolat tersebut setelah dilakukan identifikasi secara mikroskopis termasuk dalam genus bakteri *Cocccabasillus* dan *Bacillus* sebagaimana disajikan pada Tabel 1,2,3,4,5,6.

Enam isolat hasil isolasi bakteri *rhizosfer A. marina* tersebut memiliki karakteristik morfologis yang berbeda-beda. Perbedaan hasil karakteristik yang ditemukan dapat disebabkan oleh bebrapa faktor antara lain adanya faktor biotik dan biotik yang saling mempengaruhi sehingga menghasilkan keanekaragaman yang berbeda antara ke lima titik lokasi pengambilan sampel. Karakteristik morfologi dari masing-masing isolat terlihat pada Tabel 1,2,3,4,5,6. Sedangkan hasil pengamatan secara mikroskopis melalui pewarnaan Gram terlihat pada Gambar 2 (Pengamatan menggunakan perbesaran 10 x 40).

Tabel 1. Karakter Bakteri *Rhizosfer* Isolat TN-1 *Bacillus* sp

Karakter	Isolat TN-1	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Mikroskopis		
Gram	Positif	Positif
Bentuk sel	Batang	Batang
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Krem keputihan	Krem keputihan
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung

Tabel 2. Karakter Bakteri *Rhizosfer* Isolat TN-2 *Bacillus* sp

Karakter	Isolat TN-2	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Mikroskopis		
Gram	Negatif	Negatif
Bentuk sel	Batang	Batang



Karakter	Isolat TN-2	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Putih	Putih
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Datar	Datar

Tabel 3. Karakter Bakteri *Rhizosfer* Isolat TN-3 *Bacillus* sp

Karakter	Isolat TN-3	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Mikroskopis		
Gram	Positif	Positif
Bentuk sel	Batang	Batang
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Putih	Putih
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung

Tabel 4. Karakter bakteri *rhizosfer* isolat TN-4 *Bacillus* sp

Karakter	Isolat TN-4	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Mikroskopis		
Gram	Positif	Positif
Bentuk sel	Batang	Batang
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Putih	Putih
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung

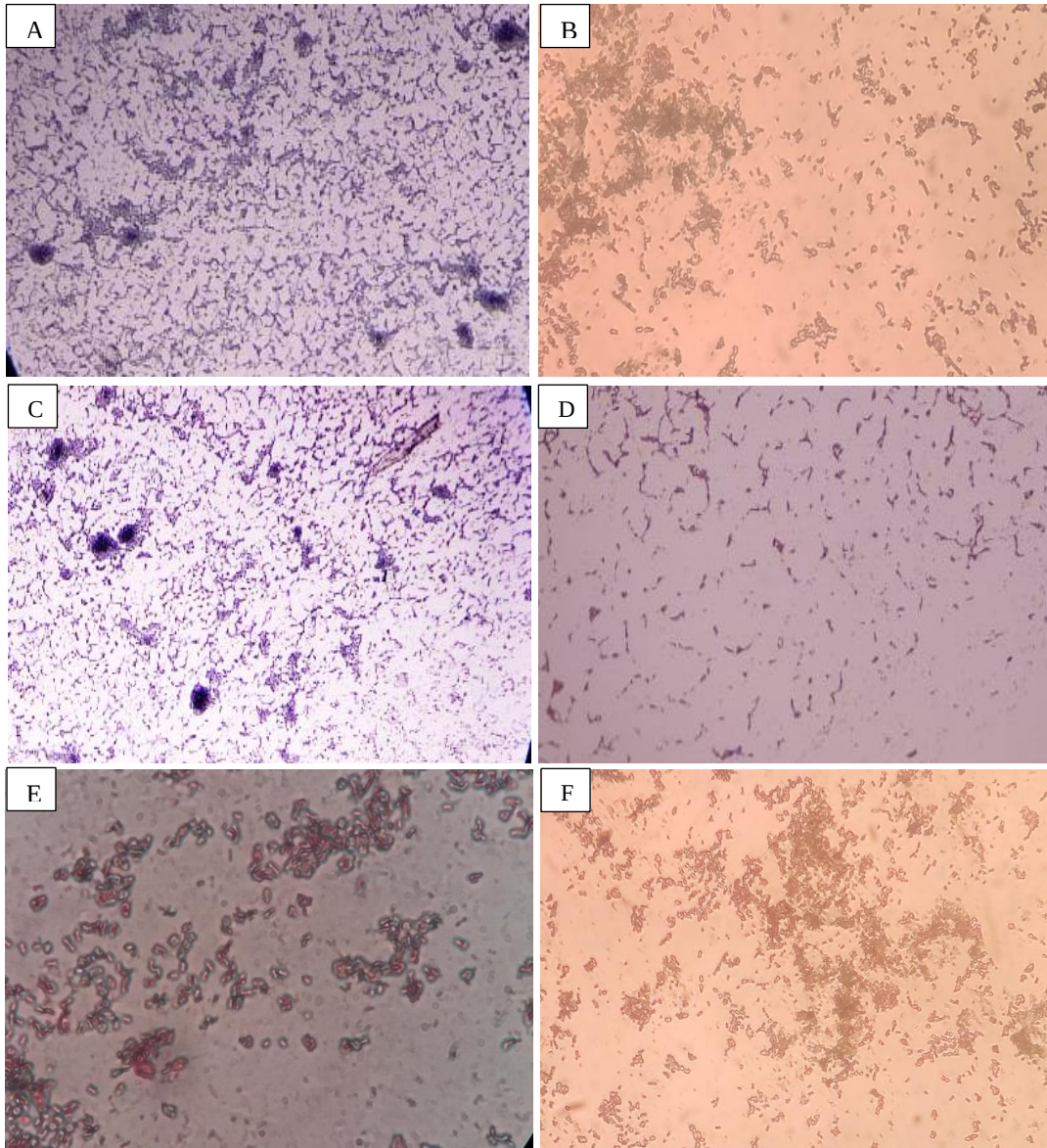
Tabel 5. Karakter Bakteri *Rhizosfer* Isolat TN-5 *Bacillus* sp

Karakter	Isolat TN-5	<i>Bacillus</i> (Zhao <i>et al.</i> , 2022)
Mikroskopis		
Gram	Positif	Positif
Bentuk sel	Batang	Batang
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Putih	Putih
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung

Tabel 6. Karakter Bakteri *Rhizosfer* Isolat TN-6 *Coccobasillus*

Karakter	Isolat TN-6	<i>Coccobasillus</i> (Shah & Collins, 1988)
Mikroskopis		
Gram	Negatif	Negatif
Bentuk sel	Batang pendek	Batang pendek
Makroskopis		
Bentuk	Batang	Batang
Warna	Putih	Putih
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung

Perbedaan bentuk dan hasil pewarnaan Gram pada bakteri dapat disebabkan karena adanya perbedaan dari struktur dinding sel dari jenis bakteri yang di ujikan. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang lebih tebal. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi pada bagian dinding selnya (Benson, 2001).



Gambar 2. Bentuk morfologi bakteri *rhizosfer* *Avicennia marina*, A) Isolat TN1, B) Isolat TN2, C) Isolat TN3, D) Isolat TN4, E) Isolat TN5, F) Isolat TN6.

Hasil pewarnaan bakteri *rhizosfer* pada tanaman *A. marina* umumnya tergolong dari genus *Bacillus* sp. Umumnya genus *Bacillus* yang memiliki ciri-ciri karakteristik berbentuk batan pendek hingga batang tunggal. Selain itu juga *Bacillus* memiliki kemampuan dalam berendospora hal inilah yang menjadikan karakteristik khusus dari *Bacillus*. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ke enam isolat yaitu TN1, TN2, TN3, TN4, TN5, dan TN6 hidup pada kondisi

Uniform Resource Locator: <https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist>



lingkungan dengan kisaran pH yaitu 6-7, dengan suhu kisaran rata-rata yaitu 29°C – 31°C. Diketahui beberapa jenis bakteri *rhizosfer* dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Serratia* dapat hidup dengan baik pada kondisi wilayah mangrove dengan pH kisaran 5-7 dan suhu maksimumnya yaitu sekitar 40°C (Behera *et al.*, 2016). Sehingga dalam penelitian ini banyak teridentifikasi bakteri *rhizosfer* dari genus *Bacillus* di kawasan ekosistem mangrove Desa Sungai Kupah karena berbagai jenis faktor biotik dan abiotik yang saling mempengaruhi.

Aktivitas Antagonistik dan Filtrat Kultur Ekstrak Isolat Bakteri *Rhizosfer* *Avicenia marina* di Kawasan Ekosistem Mangrove Desa Sungai Kupah

Sebanyak 6 isolat bakteri *rhizosfer* yang di uji terhadap bakteri patogen uji yaitu *Staphylococcus aureus*. Terdapat 3 isolat bakteri yang mempunyai aktivitas anti bakteri *S. Aureus* (TN1, TN2, dan TN5). Adanya aktivitas anti bakteri yang positif terhadap bakteri uji di tandai dengan adanya zona bening. Zona bening atau sering disebut juga zona hambat terbentuk karena beberapa faktor, seperti produksi antibiotik, hydrogen peroksida, lisosom, siderophores, protease dan enzim lainnya. Bakteriosin dapat dipengaruhi oleh pH media karena terbentuknya asam organik tertentu. Kecilnya daya hambat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain komposisi medium kultur, proses inkubasi, kecepatan difusi agar dan sensitifitas organisme. Terjadinya perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh setiap isolat terhadap jamur uji menunjukkan bahwa adanya perbedaan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan masing-masing isolat (Kaharap *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini isolat bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A. marina* memiliki kisaran hambatan antara 10.04 – 5.84 mm (Tabel 7). Davis & Stout (1971) mengklasifikasikan empat kategori daya hambat berdasarkan diameter penghambatannya yaitu lebih dari 20 mm digolongkan sangat kuat, 10-20 mm digolongkan kuat, 5-10 mm digolongkan sedang, dan kurang dari 5 mm digolongkan lemah. Pada penelitian ini terdapat dua isolat yang tergolong dalam penghambat kuat, yaitu isolat TN dengan diameter zona bening yaitu 10.04 mm yang terkategori dalam penghambatan yang kuat. Adanya aktivitas antagonistik bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A. marina* dalam menghasilkan zona bening menunjukkan bahwa dalam bakteri *rhizosfer* tersebut terkandung senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri patogen. Sehingga pada pengujian antagonistik ini menghasilkan suatu zona penghambatan atau zona bening yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Tabel 7. Aktivitas Penghambat Tiga Isolat Bakteri *Rhizosfer* Tanaman *A. marina* Terhadap Bakteri Patogen *S. aureus*

Kode Isolat	Diameter zona hambat (mm) ± SE	Kategori Penghambatan
TN1	10.04 ± 0.27 c	Kuat
TN2	6.20 ± 0.20 ab	Sedang
TN5	5.84 ± 0.12 ab	Sedang

Adanya aktivitas antagonistik bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A. marina* dalam menghasilkan zona bening menunjukkan bahwa

dalam bakteri bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* tersebut terkandung senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri patogen. Sehingga pada pengujian antagonistik ini menghasilkan suatu zona penghambatan atau zona bening yang menghambat peryumbuhan bakteri patogen.

Hasil filtrat kultur bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* menggunakan pelarut *n- heksana* menghasilkan adanya rendemen sebesar 0.81%, sedangkan pada ekstraksi yang menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen yang lebih kecil yaitu sebesar 0.72%. Adanya filtrat kultur dari bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* TN1 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan diameter zona bening yaitu 8.90 mm (Tabel 8). Ekstrak etil asetat TN1 memiliki nilai konsentrasi hambat minimum 0.5% yang lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak *n-heksana* dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 15% (Tabel 8). Ekstrak etil asetat bahkan lebih baik dibandingkan kontrol positif menggunakan kloramphenikol dengan konsentrasi hambat minimum yang lebih besar yaitu 1.0%. Hal ini menunjukkan bahan akti TN1 termasuk semipolar.

Tabel 8. Aktivitas Anti Bakteri *S.aureus* Filtrat Dan Ekstrak Kasar Isolat TN1

Sampel	Rata-rata (mm) $\pm$ SE	Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) %
Filtrat kultur	8.44 $\pm$ 1.20c	-
Ekstrak <i>n- heksana</i>	6.26 $\pm$ 0.33ab	10.00
Ekstrak Etil asetat	7.18 $\pm$ 0.42b	0.50
Kontrol positif	7.02 $\pm$ 0.32bc	1.00
Kontrol negatif	0.00 $\pm$ 0.00	-

Keterangan: Konsentrasi kontrol negatif (-) tidak ditentukan dan angka setiap baris yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak signifikan berdasarkan DMRT pada α 5%. Rata-rata penghambatan ditentukan oleh konsentrasi hambat minimum.

Filtrat kultur isolat bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* TN1 mampu menghambat bakteri patogen *S.aureus* dengan diameter 8.44 mm. Nilai penghambatan dari filtrat kultur ini lebih tinggi di bandingkan dengan nilai kontrol positif yang kloramfenikol yaitu 7.02 mm. Penggunaan kloramphenikol merupakan obat antibiotik spektrum luas yang paling banyak digunakan serta memiliki sifat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan cara menghambat pembentukan ikatan peptida (Vining *et al.*, 1984). Sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%, kontrol negatif ini tidak menghasilkan penghambatan.

Seluruh ekstrak isolat bakteri bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S.aureu* dengan nilai penghambatan yang berbeda. Pada pelarut etil asetat menghasilkan nilai penghambatan yang sangat baik bakteri patogen *S.aureu*. Etil asetat pada penelitian ini merupakan pelarut yang dapat mengekstraksi senyawa metabolit teraktif dari filtrat kultur TN1. Etil asetat merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam mengekstraksi metabolit sekunder karena sifatnya yang semipolar sehingga dapat mengikat senyawa kimia lebih beragam. Etil asetat



merupakan pelarut yang paling efisien dalam memperoleh metabolit sekunder (Yadav *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini juga menunjukkan bahwa etil asetat pada ekstrak isolat bakteri bakteri *rhizosfer* yang di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *A.marina* mampu menghasilkan nilai penghambatan pada ekstrak yang lebih tinggi bila dibandingkan ekstrak n-heksananya maupun kontrol positif. Sehingga dalam penelitian ini TN1 memiliki potensial sebagai kandidat potensial dalam pengembangan antibiotik yang ada.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat 6 isolat bakteri *rhizosfer* yang berhasil di isolasi dari *rhizosfer* tanaman *Avicenia marina*. 5 dari isolat bakteri yang berhasil di isolasi termasuk dalam jenis *Bacillus* dan 1 isolat bakteri termasuk jenis *Cocobasil*. Terdapat 3 dari 6 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S.aureus* dengan kisaran hambatan antara 10.04 -4.42 mm. TN 1 merupakan isolat dengan diameter penghambatan yang paling baik dan terkatagori kuat yaitu 10.04 mm. Ekstrak etil asetat filtrat kultur TN1, memiliki konsentrasi hambat minimum sebesar 0.50% terhadap bakteri patogen *S.aureus* dengan diameter penghambatan 7.18 mm lebih baik bila dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan kloramfenikol.

SARAN

Penulis menyarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* yang bersumber dari *rhizosfer* tanaman *Avicenia marina*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Majelis DIKTILITBANG PP Muhammadiyah dan Pusat Penelitian, Pengabdian Kepada Masyarakat dan Inovasi (P2MI), Institut Teknologi dan Kesehatan Muhammadiyah Kalimantan Barat sebagai pemberi dana penelitian sehingga kegiatan penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Selain itu penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada seluruh rekan-rekan dosen dari Program Studi Bioteknologi dan Keperawatan yang telah berperan aktif, serta mahasiswa yang terlibat sehingga dapat berjalan tanpa kendala.

DAFTAR PUSTAKA

- Basumatary, B. (2021). Isolation and characterization of endophytic bacteria from tomato foliage and their in vitro efficacy against root-knot nematodes, 53, 1–16. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2021-104>
- Behera, B. C., Singdevsachan, S. K., Mishra, R. R., Sethi, B. K., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. (2016). Phosphate Solubilising Bacteria from Mangrove Soils of Mahanadi River Delta, Odisha, India. *World Journal of Agricultural Research*, Vol. 4, 2016, Pages 18-23, 4(1), 18–23. <https://doi.org/10.12691/wjar-4-1-3>
- Benson. (2001). *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*. Laboratory Protocol.



- Fitriyani dan Huyyirna (2020). Metode Penyimpanan Bakteri *Vibrio Alginolitycus* Dan *Vibrio Harveyi* Dalam Media Tsb (*Tryptic Soy Broth*) Dan *Gliserol*. *Integrated LabJournal*, 91-101.
- Ibrahim, W. M., Olama, Z. A., Abou-elela, G. M., Ramadan, H. S., Hegazy, G. E., & El Badan, D. E. S. (2023). Exploring the antimicrobial, antiviral, antioxidant, and antitumor potentials of marine *Streptomyces tunisiensis* W4MT573222 pigment isolated from Abu-Qir sediments, Egypt. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02106-1>
- Kaharap AD, Mambo C, Nangoy E. 2016. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *e-Biomedik (eBm)*: 4(1).
- Kemenkes RI. (2013). *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Kemenkes Republik Indonesia. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Kemenkes RI. (2021). *Pedoman Penggunaan Antibiotik*. *Pedoman Penggunaan Antibiotik*, 1–97.
- Muhardianshah, Kushadiwijayanto, A. A., & Nurrahman, Y. A. (2021). Struktur Pola Vegetasi Mangrove di Desa Sungai Kupah Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya Structure Patterns of Mangrove Vegetation di Desa Sungai Kupah Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya, 4(1), 56–63.
- Piotrowska, M., Rzeczycka, M., Ostrowski, R., & Popowska, M. (2017). Diversity of antibiotic resistance among bacteria isolated from sediments and water of carp farms located in a Polish nature reserve. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(1), 239–252. <https://doi.org/10.15244/pjoes/64910>
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Richter, L. E., Carlos, A., & Beber, D. M. (2020). *Mikrobiologi Hasil Pertanian*. (M. E. Kustyawati, Ed.). Pusaka Medika.
- Romano, G., Almeida, M., Coelho, A. V., Cutignano, A., Gonçalves, L. G., Hansen, E., Geneviere, A.-M. (2022). Bioactive natural products and biomaterials from marine invertebrates: from basic research to innovative applications. Manuscript submitted for publication. *Marine Drugs*, 20, 1–45.
- Sabido, E. M., Tenebro, C. P., Suarez, A. F. L., Ong, S. D. C., Von Trono, D. J. L., Amago, D. S., Dalisay, D. S. (2020). Marine sediment-derived streptomyces strain produces angucycline antibiotics against multidrug-resistant staphylococcus aureus harboring SCCmec type 1 gene. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(10), 1–19. <https://doi.org/10.3390/JMSE8100734>.
- Sessitsch AB, Reiter G, Berg. 2004. Endophytic Bacterial Communities of Field-Grown Potato Plants and Their Plant-Growth-Promoting and Antagonistic Abilities. *Can J Microbiol*. 50(4): 239–249.



- Shah, H. N., & Collins, M. D. (1988). Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38(1), 128–131. <https://doi.org/10.1099/00207713-38-1-128>
- Siregar, A. F., Sabdono, A., & Pringgenies, D. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus* dari Laboratorium Balai Kesehatan Jawa, 1, 152–160.
- Sukoco, D., Fikrinda, & Hifnalisa. (2020). Eksplorasi Bakteri Selulolitik pada Ekosistem Mangrove. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 5(3), 35–42.
- Tenebro, C. P., Trono, D. J. V. L., Vicera, C. V. B., Sabido, E. M., Ysulat, J. A., Macaspac, A. J. M., Dalisay, D. S. (2021). Multiple strain analysis of *Streptomyces* species from Philippine marine sediments reveals intraspecies heterogeneity in antibiotic activities. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96886-4>
- Thirunavukkarasu, R., Subramanian, K., & Balaraman, D. (2014). Screening of marine seaweeds for bioactive compound against fish pathogenic bacteria and active fraction analysed by gas chromatography– mass spectrometry. *Journal of Coastal Life Medicine*, (May). <https://doi.org/10.12980/jclm.2.2014j48>
- Vining LC, Westlake D. 1984. Chloramphenicol: properties, biosynthesis and fermentation, p 387–409. In Vandamme EJ (ed), *Biotechnology of industrial antibiotics*. Marcel Dekker, New York, NY
- Yadav M, Yadav A, Kumar S, Sharma D, Yadav JP. 2014. Evaluation of in vitro antimicrobial potential of endophytic fungi isolated from *Eugenia jambolana* Lam. *Inter J Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6:208211.
- Zhao, X., Zervas, A., Hendriks, M., Rajkovic, A., van Overbeek, L., Hendriksen, N. B., & Uyttendaele, M. (2022). Identification and characterization of *Bacillus thuringiensis* and other *Bacillus cereus* group isolates from spinach by whole genome sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 13(December). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1030921>