

**IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOSIMBION POTENSIAL MANGROVE
Rhizophora sp. YANG MEMILIKI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* (ESCHERICH, 1886)
DAN *Staphylococcus aureus* (OGSTON, 1880)**

(Skripsi)

Oleh

Melissa Theresia

NPM 1814221033



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOSIMBION POTENSIAL MANGROVE *Rhizophora sp.* YANG MEMILIKI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* (ESCHERICH, 1886) DAN *Staphylococcus aureus* (OGSTON, 1880)

Oleh

MELISSA THERESIA

Penyakit yang umum terjadi di masyarakat Indonesia adalah penyakit diare dan infeksi kulit. Penyebab kedua penyakit tersebut adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Rhizophora sp.* dimanfaatkan masyarakat sebagai obat alami karena mengandung senyawa antibakteri. Untuk menghadapi serangan resistensi terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperlukan adanya penelitian guna mendapatkan agen antibiotik baru dengan memanfaatkan bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora sp.* Penelitian bertujuan untuk skrining dan identifikasi bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora sp.* Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2022-Juni 2023 di Laboratorium Oseanografi. Jenis sampel mangrove yang dianalisis merupakan mangrove jenis *Rhizophora mucronata*. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan hasil berupa isolat bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora mucronata* yaitu RBB 1.11 yang memiliki aktivitas antibakteri pada uji pendahuluan terhadap patogen *E. coli* dengan zona hambat sebesar 4,06 mm dan pada patogen *S. aureus* sebesar 6,26 mm. Hasil identifikasi molekuler dari bakteri endosimbion potensial yang didapat dari mangrove *Rhizophora mucronata* adalah bakteri *Bacillus safensis*. Perlu penelitian lanjutan mengenai karakterisasi senyawa aktif yang terkandung dalam bakteri potensial yang didapat agar dapat menjadi bionatural produk yang dapat dimanfaatkan masyarakat.

Kata kunci: bakteri endosimbion, *Rhizophora sp.*, *E. coli*, *S. aureus*

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF POTENTIAL ENDOSYMBIOTIC BACTERIA FROM *Rhizophora* sp. MANGROVE WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *Escherichia coli* (ESCHERICH, 1886) AND *Staphylococcus aureus* (OGSTON, 1880).

By

MELISSA THERESIA

Diseases that commonly occur in Indonesian society are diarrhea and skin infections. The causes of these two diseases are *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. *Rhizophora* sp. It is used by the public as a natural medicine because it contains antibacterial compounds. To face resistance attacks against the pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, research is needed to obtain new antibiotic agents by utilizing the mangrove endosymbiont bacteria *Rhizophora* sp. The research aims to screening and identify the mangrove endosymbiont bacteria *Rhizophora* sp. The research was carried out in October 2022-June 2023 at the Oceanographic Laboratory. The type of mangrove sample analyzed was *Rhizophora mucronata* mangrove. Based on research that has been carried out, the results obtained are an isolate of the mangrove endosymbiont bacteria *Rhizophora mucronata* RBB 1.11, which has antibacterial activity in preliminary tests against the *E. coli* pathogen with an inhibition zone of 4,06 mm and for the *S. aureus* pathogen of 6,26 mm. The results of molecular identification of potential endosymbiont bacteria obtained from the *Rhizophora mucronata* mangrove are *Bacillus safensis* bacteria. Further research is needed regarding the characterization of the active compounds contained in the potential bacteria obtained so that they can become bionatural products that can be utilized by the human health

Keywords: endosymbiotic bacteria, *E. coli*, *Rhizophora* sp., *S. aureus*

**IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOSIMBION POTENSIAL
MANGROVE *Rhizophora sp.* YANG MEMILIKI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* (ESCHERICH, 1886)
DAN *Staphylococcus aureus* (OGSTON, 1880)**

Oleh

MELISSA THERESIA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOSIMBION
POTENSIAL MANGROVE *Rhizophora* sp.
YANG MEMILIKI AKTIVITAS ANTIBAK-
TERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
(ESCHERICH, 1886) DAN *Staphylococcus*
aureus (OGSTON, 1880)

Nama Mahasiswa : *Melissa Theresia*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814221033

Program Studi : Ilmu Kelautan

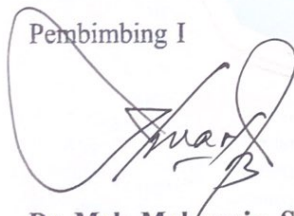
Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

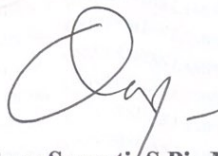
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



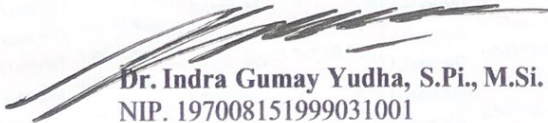
Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.
NIP. 197412122000031002

Pembimbing II



Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.
NIP. 198810012019032014

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan



Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 197008151999031001

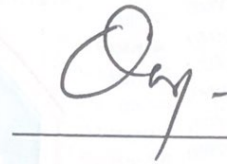
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

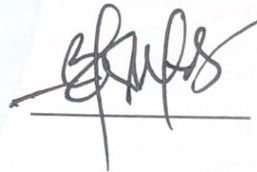
Ketua : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.



Sekretaris : Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.



Anggota : Eko Effendi, S.T., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Arwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 196110201986031002

Tanggal lulus ujian skripsi: 31 Agustus 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Melissa Theresia

NPM : 1814221033

Judul Skripsi : Identifikasi Bakteri Endosimbion Potensial Mangrove *Rhizophora* sp. yang Memiliki Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* (Escherich, 1886) dan *Staphylococcus aureus* (Ogston, 1880)

Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari karya orang lain. Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 12 Oktober 2023



Melissa Theresia
NPM. 1814221033

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di DKI Jakarta, pada tanggal 10 Maret 2000 sebagai anak dari Bapak Martua Silalahi dan Ibu Mariani Hutagaol. Penulis menempuh pendidikan formal dari Taman Kanak-Kanak Bersinar Bagi Bangsa (2005 – 2006), SDN Cipayung 05 (2006 – 2012), SMPN 222 Jakarta (2012 – 2015), dan SMAN 80 Jakarta (2015 – 2018). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang Sarjana (S1) di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2018.

Penulis pernah aktif pada Pomperta (Persekutuan Oikumene Mahasiswa Kristen Pertanian Universitas Lampung) sebagai anggota pengurus pada Divisi Kelompok Kecil (KK) pada periode 2018-2019 dan Organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himpik) FP Unila sebagai anggota Divisi Pengkaderan pada periode 2019 – 2020 dan 2019 – 2020. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Bionatural Produk pada semester ganjil tahun ajaran 2022/2023. Penulis telah mengikuti Praktik Umum di Pusat Budi-daya dan Konservasi Laut (PBKL), Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan dan Pertanian (DKPKP) DKI Jakarta, yang berlokasi di Pulau Tidung, Kepulauan Seribu.

SANWACANA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat kasih karunia yang selalu menyertai penulis, sehingga penulis mampu menyusun skripsi yang berjudul “Identifikasi Bakteri Endosimbion Potensial Mangrove *Rhizophora sp.* yang Memiliki Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* (Escherich, 1886) dan *Staphylococcus aureus* (Ogston, 1880)”. Skripsi dapat terselesaikan dengan adanya dukungan dan bantuan dari beberapa pihak lainnya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung,
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan,
3. Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T. selaku Ketua Program Studi Ilmu Kelautan,
4. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I,
5. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II,
6. Eko Effendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Penguji dan Dosen Pembimbing Akademik,
7. Orang tua, abang, dan kakak penulis yang telah mendukung tiap proses penulis dan bekerja keras untuk membiayai pendidikan penulis,
8. Dewi Ratna Sari, Dwi Puspitasari, R. Nata Trisna H, Aqilla Fadya R, Bagus Purnomo Aji, Aditya Prayoga sebagai tim mikrobiologi yang senantiasa membantu penulis dalam penelitian,
9. Caroline Lydia Aulia, Indah Falupi, dan teman teman seperjuangan mahasiswa Prodi Ilmu Kelautan angkatan 2018.

Dengan adanya skripsi yang telah disusun, penulis berharap dapat membantu dan memberi informasi kepada pembaca, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Bandar Lampung, Oktober 2023

Melissa Theresia
NPM.1814221033

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mangrove	5
2.1.1 Keragaman Jenis Mangrove.....	5
2.1.2 Fungsi dan Manfaat Ekologis Hutan Mangrove	6
2.1.3 Mangrove <i>Rhizophora</i> dan Struktur Jaringan <i>Rhizophora</i>	7
2.1.4 Metabolit Sekunder Mangrove	11
2.1.5 Mikroba Endosimbion Mangrove	13
2.2 Bakteri Patogen	14
2.2.1 <i>Escherichia coli</i>	14
2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat.....	18
3.2 Alat dan Bahan.....	18
3.3 Metode Penelitian	20
3.3.1 Pengambilan Sampel Mangrove <i>Rhizophora</i> sp. dan Isolasi Bakteri Endosimbion	22
3.3.2 Inokulasi, Identifikasi dan Pemurnian Bakteri Endosimbion	23
3.3.3 Uji Antagonis	24
3.3.5 Ekstraksi Bakteri Endosimbion Potensial.....	26
3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri	27
3.3.7 Uji BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	28
3.3.4 Identifikasi Mikroskopis dan Pewarnaan Gram.....	30
3.3.8 Identifikasi Molekuler.....	32

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Identifikasi Mangrove	36
4.2 Inventarisasi Isolat Bakteri Endosimbion Mangrove <i>Rhizophora</i> sp.	37
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endosimbion Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	39
4.3 Uji Aktivitas Ekstrak Bakteri Endosimbion Potensial Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	40
4.4 Uji BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	42
4.5 Identifikasi Molekuler Bakteri Endosimbion Potensial	43
V. PENUTUP	47
4.1 Kesimpulan	47
4.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
Lampiran	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa metabolit sekunder mangrove <i>Rhizophora</i> sp.....	12
2. Bakteri endosimbion mangrove dan aktivitasnya.....	14
3. Alat yang digunakan.....	18
4. Bahan yang digunakan	20
5. Kategori zona hambat.....	26
6. Kategori toksisitas	30
7. Morfologi isolat bakteri endosimbion mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	37
8. Hasil uji antagonis isolat bakteri terhadap bakteri patogen.....	39
9. Uji aktivitas ekstrak bakteri.....	41
10. Hasil uji BSLT (<i>brine shrimp lethality test</i>)	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir	4
2. Struktur jaringan daun <i>Rhizophora</i> sp.	10
3. Struktur jaringan batang <i>Rhizophora</i> sp.	10
4. Struktur jaringan akar <i>Rhizophora</i> sp.	11
5. <i>Escherichia coli</i>	15
6. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
7. Diagram alir penelitian	21
8. Pengambilan sampel dan isolasi sampel mangrove <i>Rhizophora</i> sp.	22
9. Inokulasi, identifikasi, dan pemurnian bakteri	23
10. Uji antagonis isolat bakteri	25
11. Ekstraksi bakteri endosimbion potensial	26
12. Uji antagonis ekstrak bakteri endosimbion potensial	27
13. Uji toksisitas ekstrak bakteri endosimbion potensial	28
14. Identifikasi mikroskopis dan pewarnaan Gram	31
15. Identifikasi molekuler	32
16. Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	36
17. Hasil elektroforesis ekstrak DNA bakteri endosimbion	43
18. Pohon filogenetik isolat bakteri RBB 1.11	44
19. Identifikasi mikroskopis bakteri RBB 1.11	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Aktivitas isolat RBB 1.11	55
2. Aktivitas ekstrak bakteri RBB 1.11	55
4. Perhitungan konsentrasi uji toksisitas	56
5. Perhitungan uji toksisitas	57
6. Sekuensing DNA bakteri RBB 1.11	58

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit diare merupakan penyakit endemis yang berpotensi menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) dan masih menjadi penyumbang angka kematian di Indonesia (Qisti *et al.*, 2021). Penyakit diare dapat diderita oleh semua kalangan manusia. Gejala yang akan muncul saat seseorang yang sedang menderita diare adalah buang air besar lebih dari tiga kali atau lebih dalam sehari dengan konsistensi feses lunak ataupun cair. Diare dapat menyebabkan dehidrasi karena kehilangan banyak cairan tubuh, demam, sakit perut, pengurangan nafsu makan dan berat badan. Penyakit diare masih merupakan masalah global dengan derajat kesakitan dan kematian yang tinggi di berbagai negara, terutama di negara berkembang, dan sebagai salah satu penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian anak di dunia (Kemenkes, 2011). Penyebab utama penyakit diare adalah mikroba bakteri *Escherichia coli*.

Selain diare, penyakit infeksi kulit, seperti bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka adalah penyakit yang juga paling umum di Indonesia. Penyebab terjadinya infeksi kulit disebabkan adanya trauma pada kulit yang memungkinkan masuknya mikroorganisme patogen ke dalam jaringan dan memicu respon selular yang kompleks yang mencakup mobilisasi sel-sel imunitas ke lokasi infeksi. Bakteri patogen yang menyebabkan infeksi kulit adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *S. aureus* tidak hanya menyebabkan infeksi kulit, namun juga penyakit-penyakit lain seperti pneumonia, meningitis, dan endocarditis (Jawetz *et al.*, 2007).

Antibiotik menjadi obat yang paling sering digunakan sebagai pencegah atau mengobati penyakit infeksi antibakteri. Namun, ketidakbijakan dalam pengkonsumsian antibiotik mengakibatkan terjadinya resistensi yang disebabkan oleh perubahan virulensi pada bakteri. Oleh karena itu, diperlukan adanya agen antibiotik yang baru dan efektif untuk mensiasati permasalahan resistensi antibiotik. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik adalah mangrove karena memiliki kandungan senyawa seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Rohaeti *et al.*, 2010).

Masyarakat Indonesia banyak memanfaatkan tumbuhan sebagai pengobatan alternatif. Umumnya cara pengolahan tumbuhan untuk dijadikan obat adalah dengan mengambil senyawa bioaktifnya dengan cara mengekstrak bagian dari tanaman yang akan dipakai tersebut. Cara pengolahan tersebut terbilang tidak efektif karena akan membuat ketersediaan tanaman tersebut berkurang. Salah satu solusi dari masalah tersebut adalah memanfaatkan bakteri endosimbion (Radji, 2005).

Bakteri endosimbion merupakan jenis bakteri yang tumbuh dan berkembang dalam jaringan inang. Keberadaan bakteri endosimbion dalam jaringan inang tidak menyebabkan dampak negatif pada jaringan inang (Bhore dan Sathisha, 2010). Dari hasil penelitian terdahulu ditemukan bahwa beberapa jenis dari bakteri endosimbion dapat menghasilkan senyawa aktif yang memiliki sifat antimalaria (Simanjuntak *et al.*, 2004), antibiotik (Kusumawati *et al.*, 2014), antifungi (Hanif dan Susanti, 2017). Keunggulan penggunaan bakteri endosimbion adalah bakteri endosimbion yang diisolasi dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, bahkan dengan jumlah yang lebih banyak. Oleh karena itu, tidak perlu lagi untuk menebang tanaman aslinya yang dapat merusak ekosistem dan memiliki waktu yang lama untuk panen (Radji, 2005).

Rhizophora sp. telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk pengobatan alami, seperti pada bagian kulit kayu, bunga, dan daunnya (Purnobasuki, 2004). Potensi mangrove lainnya adalah sebagai antibiotik alami karena *Rhizophora* sp. mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan juga tanin (Rohaeti *et al.*, 2010).

Dalam mengatasi masalah resistensi terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, diperlukan penelitian untuk mengidentifikasi agen antibiotik baru dengan menggunakan bakteri endosimbion dari mangrove *Rhizophora* sp..

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah:

1. Skrining bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora* sp. yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*; dan
2. Identifikasi molekuler bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora* sp. yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

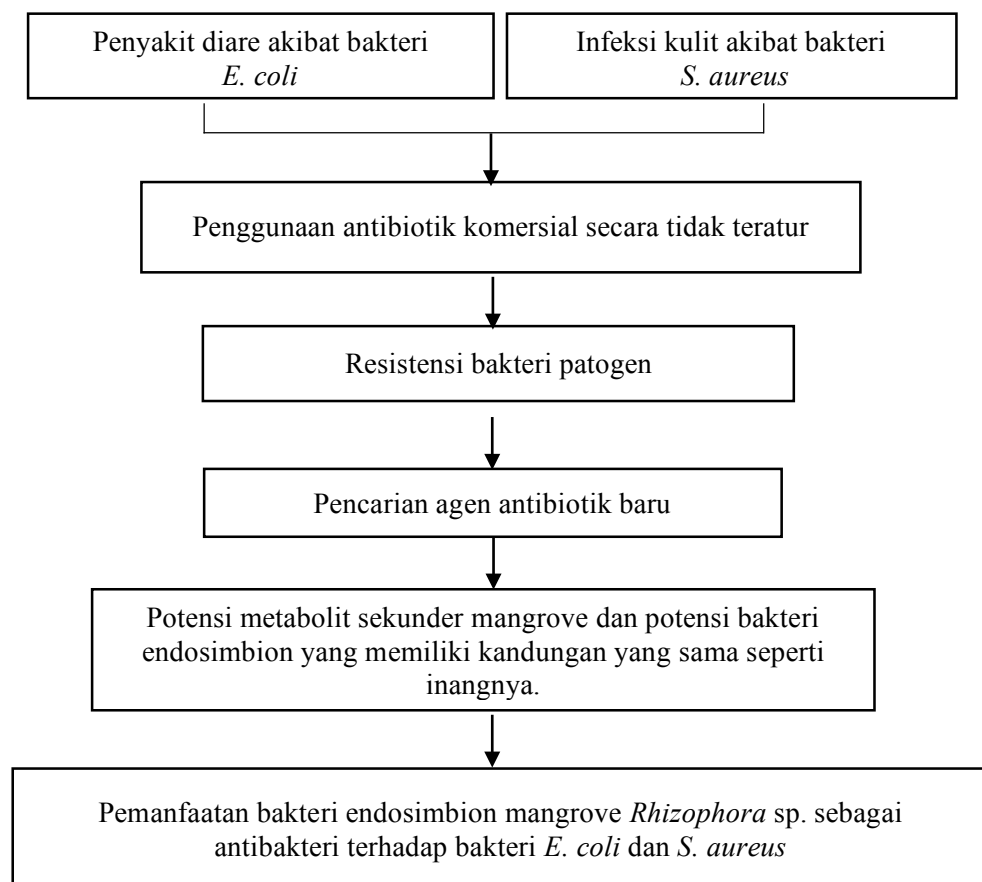
1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah memberi informasi mengenai potensi dan spesies bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora* sp. yang memiliki aktivitas dan daya hambatnya terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4 Kerangka Pikir

Bakteri patogen merupakan bakteri yang mampu menimbulkan penyakit (Pardamean *et al.*, 2021). *E. coli* dan *S. aerus* merupakan contoh dari berbagai macam bakteri patogen di dunia, yang mana *E. coli* dapat menyebabkan penyakit diare, sedangkan *S. aerus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit. Salah satu upaya yang dilakukan oleh manusia untuk menghentikan infeksi dari kedua bakteri tersebut adalah dengan mengonsumsi antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak teratur dapat membuat bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotik yang diberikan (Negara, 2014). Agen antibiotik baru sangat diperlukan guna menyiasati permasalahan resistensi antibiotik komersial yang merupakan akibat dari ketidakteraturan dalam mengonsumsinya.

Vegetasi mangrove merupakan satu jenis tanaman yang banyak tumbuh dan berkembang di wilayah pesisir pantai. Masyarakat pesisir banyak memanfaatkan mangrove sebagai tanaman obat. Terdapat beragam jenis mangrove, salah satunya adalah *Rhizophora* sp.. Menurut Rohaeti *et al.*, (2010), *Rhizophora* sp. memiliki potensi sebagai agen antibiotik karena mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin yang memiliki efek antibakteri. Bakteri endosimbion diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder sama seperti inangnya (Radju, 2005). Oleh karena itu tersebut, bakteri endosimbion pada mangrove *Rhizophora* sp. memiliki potensi antibakteri yang sama seperti inangnya. Pemanfaatan bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora* sp. terhadap *E. coli* dan *S. aureus* memiliki potensi sebagai agen antibiotik baru. Kerangka pemikiran ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove

Vegetasi mangrove memiliki nama yang berasal dari perpaduan dua Bahasa, yaitu Portugis (*mangue*) dan Inggris (*grove*). Mangrove dalam bahasa Portugis memiliki artian individu spesies tumbuhan dan dari bahasa Inggris memiliki artian sebagai komunitas tumbuhan yang tumbuh di kawasan yang terdapat pasang surut juga individu yang dari jenis tumbuhan lain yang berasosiasi. Vegetasi mangrove adalah jenis pohon kayu yang dapat tumbuh berkembang di kawasan pesisir daerah tropis dan subtropis (Barati *et al.*, 2011). Vegetasi mangrove berada pada daerah pertemuan antara ekosistem darat dengan ekosistem laut. Mangrove memiliki sifat dinamis dan memiliki kemampuan untuk beradaptasi serta pulih dengan cepat apabila kondisi dari faktor hidrologi, komposisi habitat, geomorfologi tidak berubah (Wardhani, 2011).

Vegetasi mangrove hidup di sepanjang tepi pantai yang terpengaruh pasang tertinggi hingga surut terendah atau dengan kata lain mangrove dapat hidup bebas dari genangan air laut hingga terendam air laut. Daerah pantai yang mengalami dinamika pasang surut yang sesuai dengan kriteria habitat mangrove antara lain muara sungai, pantai yang terlindung, dan laguna. Habitat mangrove merupakan tempat yang bersalinitas sehingga tumbuhan mangrove memiliki toleransi yang tinggi terhadap salinitas air laut (Kusmana *et al.*, 2003)

2.1.1 Keragaman Jenis Mangrove

Tumbuhan mangrove memiliki kemampuan khusus untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti kondisi tanah yang tergenang, kadar

garam yang tinggi serta kondisi tanah yang kurang stabil. Mangrove dapat mengembangkan mekanisme secara aktif dalam menghadapi berbagai kondisi lingkungan dengan mengeluarkan garam dari jaringan, sementara yang lainnya mengembangkan sistem akar napas untuk membantu memperoleh oksigen bagi sistem perakarannya. Dalam hal lain, beberapa jenis mangrove berkembang dengan buah yang sudah berkecambah sewaktu masih di pohon induknya (vivipar), seperti *Kandelia*, *Bruguiera*, *Ceriops* dan *Rhizophora*. (Noor *et al.*, 2006).

Jenis-jenis tumbuhan mangrove yang ditemukan di hutan mangrove di Indonesia sekitar 89 jenis yang terdiri atas 35 jenis pohon. Jenis mangrove yang paling sering ditemukan adalah jenis pedada (*Sonneratia* sp.), bakau (*Rhizophora* sp.), api-api (*Avicennia* sp.), tancang (*Bruguier* sp.). Jenis-jenis mangrove tersebut merupakan kelompok mangrove yang memiliki sifat dapat menangkap, menahan endapan, dan menstabilkan tanah habitat yang mereka tempatkan (Rahim, 2017)

Noor *et al.*, (2006) mendefinisikan hutan mangrove sebagai hutan yang terutama tumbuh pada tanah lumpur aluvial di daerah pantai dan muara sungai yang dipengaruhi pasang surut air laut, dan terdiri atas jenis-jenis pohon *Avicennia*, *Sonneratia*, *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Ceriops*, *Lumnitzera*, *Excoecaria*, *Xylocarpus*, *Aegiceras*, *Scyphyphora*, dan *Nypa*.

Kemampuan mangrove dapat tumbuh baik di substrat berlumpur dan di perairan pasang disebabkan oleh akar-akar khusus yang berfungsi sebagai penyangga sekaligus penyerap oksigen dari udara di permukaan air secara langsung. Tipe perakaran mangrove terbagi menjadi lima, yaitu: akar tongkat (akar tunjang), akar lutut (*knee root*), akar cakar ayam, akar papan (*buttress root*) dan akar gantung (*aerial root*) (Rahim, 2017).

2.1.2 Fungsi dan Manfaat Ekologis Hutan Mangrove

Ekosistem mangrove memiliki berbagai macam fungsi. Beberapa fungsi mangrove menurut Subekti (2012) sebagai berikut:

1. fungsi fisik: berfungsi menjaga garis pantai agar tetap stabil, melindungi pantai dari erosi dan intrusi air laut, peredam gelombang, penangkap sedimen, penyerap CO₂ dan penghasil O₂ serta mengurangi resiko terhadap bahaya tsunami;
2. fungsi biologis: berfungsi menjadi daerah asuhan (*nursery ground*), daerah mencari makan (*feeding ground*) dan daerah pemijahan (*spawning ground*) bagi berbagai biota laut, sebagai habitat alami bagi berbagai jenis biota (aves, mamalia, dan reptilia) dan sebagai sumber plasma nutfah (hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme); dan
3. fungsi sosial ekonomi: berfungsi sebagai sumber bahan bangunan dan kerajinan, objek pendidikan dan penelitian, areal pertambakan, produksi berbagai hasil hutan (kayu, arang, obat, dan makanan).

Peranan mangrove dapat menunjang kegiatan perikanan pantai. Pertama, mangrove berperan penting dalam siklus hidup berbagai jenis ikan, udang dan moluska, karena lingkungan mangrove menyediakan perlindungan dan makanan berupa bahan-bahan organik yang masuk kedalam rantai makanan. Kedua, mangrove merupakan pemasok bahan organik, sehingga dapat menyediakan makanan untuk organisme yang hidup pada perairan sekitarnya. Produksi serasah mangrove berperan penting dalam kesuburan perairan pesisir dan hutan mangrove dianggap yang paling produktif di antara ekosistem pesisir (Noor *et al.*, 2006).

2.1.3 Mangrove *Rhizophora* dan Struktur Jaringan *Rhizophora*

Rhizophora adalah genus terbesar dalam famili Rhizophoraceae, terdiri dari tiga spesies utama: *R. mucronata*, *R. stylosa*, dan *R. apiculata*. Spesies *Rhizophora* sp. juga penting secara ekonomi sebagai kayu bakau komersial dan pasokan kayu di kawasan Asia-Pasifik. Kayunya terutama digunakan untuk membuat pasak ikan, tiang pancang kayu, arang, dan serpihan kayu, yang kemudian diubah menjadi rayon. Spesies *Rhizophora* mudah dikenali secara morfologis dengan ciri yang jelas dari benih vivipar dan akar pneumatofornya. Benih vivipar adalah karakteristik paling berbeda dari spesies mangrove sejati yang memungkinkannya beradaptasi

dengan air dengan kondisi salinitas tinggi. Untuk tujuan adaptasi, genus *Rhizophora* juga memiliki ciri-ciri unik yang membedakannya dari tumbuhan darat, seperti akar jangkung, daun sukulen dengan titik-titik hitam di bawah daun, dan buah vivipar. *Rhizophora* sp. memiliki tinggi di atas 20 m yang mana akar panggunya membantu pertumbuhan. Kulit pohonnya memiliki warna abu-abu gelap dengan celah vertikal. Daunnya sederhana dengan tangkai daun, tersusun berlawanan, ukuran daun rata-rata panjang 11,60-14,00 cm dan lebar 4,50-5,30 cm, elips-lonjong sempit, puncak lancip, pangkal runcing, seluruh tepi dengan permukaan kasar, berurat penni tetapi venasi hampir tidak terlihat, hijau tua dan ada hitam bertitik di bawah permukaan daun. Bunganya actinomorphic dan polypetalous, 4 sepal berwarna kuning, 4 kelopak berwarna putih, bentuk lanset, permukaan tidak berbulu, 10-12 benang sari (Shazwan *et al.*, 2021).

Genus *Rhizophora* mendominasi sebagian besar hutan bakau di wilayah Indo-Pasifik Barat dan Atlantik-Pasifik Timur dan catatan fosil dari genus dan keluarganya relatif melimpah karena bentuk propagul yang berbeda (Takayama *et al.*, 2021) Karakter morfologi yang dapat membedakan jenis-jenis *Rhizophora* adalah bentuk ujung daun, tata susun letak daun, posisi kelopak bunga saat muncul hipokotil, jumlah kelopak bunga, tipe bunga, warna kelopak bunga, dan tipe mahkota bunga (Irawan *et al.*, 2013).

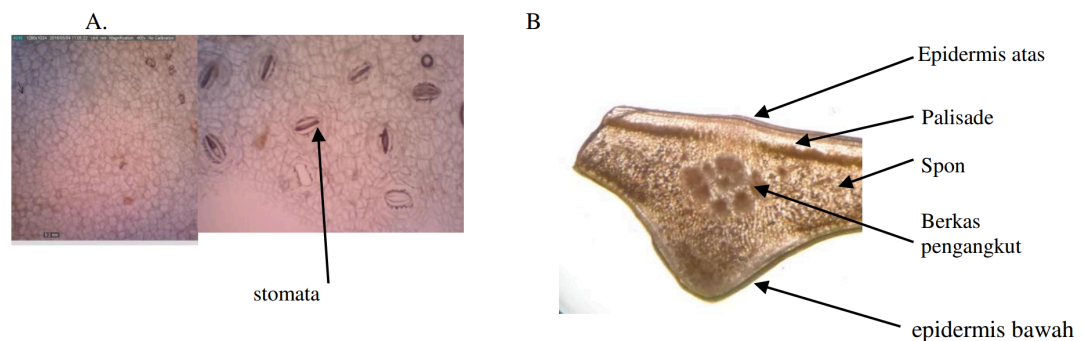
Keberhasilan pertumbuhan *Rhizophora* utamanya ditunjang oleh kemampuan berkembang biak dengan bantuan angin, meskipun dapat juga berkembang biak dengan bantuan serangga karena bunganya memiliki bau, warna, dan nektar yang dapat menarik serangga (Setyawan *et al.*, 2014). *Rhizophora* sering disebut sebagai tumbuhan pionir atau tergolong sebagai tumbuhan penyusun terdepan pesisir dan sepanjang waktu digenangi oleh perairan sungai atau laut. Genus *Rhizophora* memiliki tiga spesies, yaitu *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata*, dan *Rhizophora stylosa*. Secara umum genus *Rhizophora* memiliki tipe akar tunjang yang bercabang banyak, bentuk ujung daun runcing hingga meruncing, dan pangkal daun runcing (Tihurua *et al.*, 2020)

Rhizophora mucronata adalah pohon berukuran kecil hingga sedang yang tumbuh hingga ketinggian sekitar 20 hingga 25 meter di tepi sungai. Di pinggiran laut 10 atau 15 meter lebih tinggi. Pohon tertinggi paling dekat dengan air dan pohon yang lebih pendek lebih jauh ke pedalaman. Pohon *Rhizophora mucronata* memiliki banyak akar panggung udara menopang batang. Daunnya berbentuk elips dan biasanya panjangnya sekitar 12 cm dan lebar 6 cm. Mereka memiliki ujung yang memanjang tetapi sering putus. Ada kutil gabus di bagian bawah daun yang pucat. Bunga berkembang digugus aksila pada ranting. Masing-masing memiliki bunga berwarna krem dengan empat sepal dan empat putih, kelopak berbulu. Bijinya bersifat vivipar dan mulai berkembang saat masih melekat pada pohon (Batool *et al.*, 2014).

Rhizophora apiculata merupakan pohon dengan ketinggian mencapai 30 m dengan diameter batang mencapai 50 cm. Memiliki perakaran yang khas hingga mencapai ketinggian 5 meter. Daun dari *Rhizophora apiculata* berbentuk elips menyempit dan ujung meruncing, berwarna hijau tua dengan hijau muda pada bagian tengah dan kemerahan pada bagian bawah. Memiliki bunga dengan formasi 2 bunga per kelompok, kelopak bunga berjumlah 4 berwarna kuning kecokelatan. Memiliki buah kasar berbentuk bulat memanjang, berwarna coklat berisi satu biji fertile. Hipokotilnya silindris, berbintil, berwarna hijau, jingga dan berukuran 18-38 cm panjangnya. *R. apiculata* tumbuh pada tanah berlumpur, halus dalam dan tergenang pada saat pasang normal (Noor *et al.*, 2006)

Rhizophora stylosa. merupakan pohon dengan satu atau banyak batang, tingginya mencapai 10 m. memiliki akar tunjang dengan panjang hingga 3 m dan akar udara yang tumbuh dari cabang bawah. Daun *R. stylosa* berbentuk elips melebar dengan ujung meruncing, berwarna hijau dan berbintik di lapisan bawah. Memiliki bunga dengan formasi 8-16 bunga per kelompok, kelopak bunga berjumlah 4 berwarna kuning hijau dengan panjang 13-19 mm. memiliki buah dengan ukuran 2,5-4 cm berisi satu biji fertile. Hipokotil silindris, leher kotilodon kuning kehijauan ketika matang. *R. stylosa* tumbuh pada habitat yang beragam di daerah pasang surut: lumpur, pasir dan batu, serta menghasilkan bunga dan buah sepanjang tahun (Noor *et al.*, 2006).

Secara umum daun *Rhizophora* sp. terdiri atas jaringan epidermis atas, jaringan palisade, jaringan spons, jaringan epidermis bawah. Di antara jaringan mesofil (jaringan palisade dan jaringan spon) terdapat berkas pengangkut xylem dan floem. Stomata terdapat diantara sel-sel epidermis bawah. Tipe stomata *Rhizophora* sp. merupakan tipe stomata yang memiliki sel tetangga dua, bidang persekutuan segaris dengan celah stomata (Hadi *et al.*, 2016). Penampang melintang daun *Rhizophora* sp. ditunjukkan oleh Gambar 2.



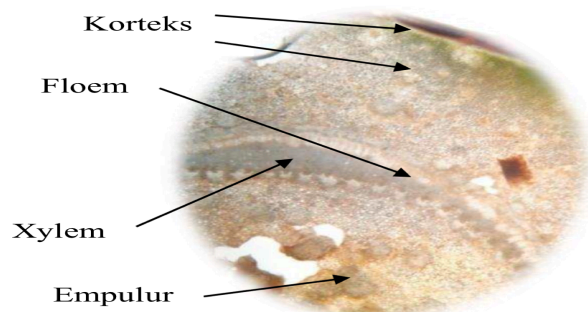
Gambar 2. Struktur jaringan daun *Rhizophora* sp.

Keterangan: (A) irisan epidermis atas dan bawah daun;

(B) Irisan pada ibu tulang daun

Sumber: Hadi *et al.*, (2016).

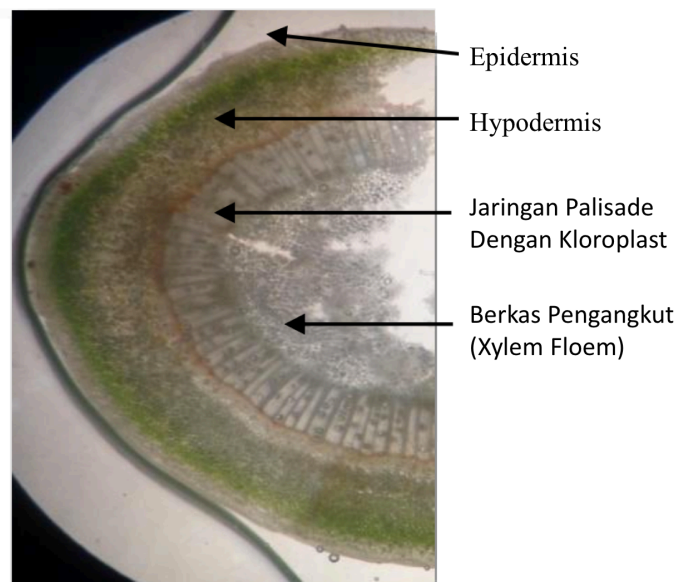
Rhizophora sp. merupakan tanaman yang memiliki perawakan pohon. Batang pokok *Rhizophora* sp. berkayu (*woody, ligneous, lignified*), tipe kayu keras. Diameter batang tua mencapai 50 cm. Jaringan batang *Rhizophora* sp. terdapat korteks (epidermis, hipodermis), floem, xylem, dan empulur. Pada epidermis terdapat stomata (Hadi *et al.*, 2016). Penampang melintang batang ditunjukkan Gambar 3.



Gambar 3. Struktur jaringan batang *Rhizophora* sp.

Sumber: Hadi *et al.*, (2016).

Susunan jaringan akar *Rhizophora* sp. (Gambar 4), yaitu epidermis akar, hipodermis, jaringan palisade dengan kloroplast, dan berkas pengangkut (xylem dan floem). Jaringan epidermis adalah jaringan terluar dari akar yang berupa selapis sel menyelimuti permukaan akar. Jaringan hypodermis juga berupa selapis sel yang berukuran lebih besar dibandingkan dengan epidermis. Jaringan palisade dengan kloroplast akar dapat membantu proses fotosistesis. Hal tersebut dapat terjadi karena posisi dari akar yang bercabang dari batang utama. Sisi dalam perisikel terdapat berkas pengangkut jaringan xylem dan jaringan floem (Hadi *et al.*, 2016). Susunan jaringan akar *Rhizophora* sp. ditunjukkan pada Gambar 4.

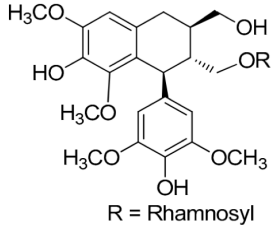
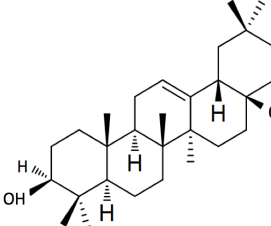
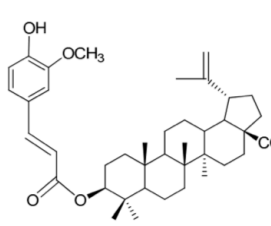
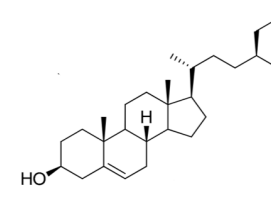


Gambar 4. Struktur jaringan akar *Rhizophora* sp.
Sumber: Hadi *et al.*, (2016).

2.1.4 Metabolit Sekunder Mangrove

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh makhluk tumbuhan, mikrobia atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital sebagaimana gula, asam amino dan asam lemak. Metabolit sekunder memiliki aktivitas farmakologi dan biologi. Senyawa metabolit sekunder yang berasal dari mangrove dapat dilihat dari Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa metabolit sekunder mangrove *Rhizophora* sp.

No	Senyawa metabolit sekunder	Aktivitas senyawa	Asal senyawa	Struktur senyawa (Nebula <i>et al.</i> , 2013).
1	lyoniresinol-3 α -O- β -rhamnoside	Antioksidan	<i>Rhizophora Apiculata</i>	 <p>R = Rhamnosyl</p>
2	β -amyrin	Antioksidan dan antifungal	<i>Rhizophora Mucronata</i>	
3	careaborin	Antibakteri	<i>Rhizophora lamarckii</i>	
4	β -sitosterol,	Anti diabetes dan hematuria	<i>Rhizophora stylosa</i>	

Sumber: Nebula *et al.*, (2013); Pambudi dan haryoto, (2022).

Beberapa jenis senyawa yang berpotensi sebagai agen promosi kesehatan, seperti katekin, genistrein, flavonoid, stilebenoid dapat diisolasi dari bahan alam baik dari mikroba, tumbuhan, jamur, maupun sarang serangga seperti propolis (sarang lebah) ataupun sarang semut (Syarifudin, 2014). Senyawa metabolit sekunder memiliki beberapa fungsi, di antaranya sebagai atraktan (menarik organisme lain), pertahanan terhadap patogen, perlindungan dan adaptasi terhadap stress lingkungan, pelindung terhadap sinar ultra violet, sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain (alelopati) (Dalimunthe dan Rachmawan, 2017).

Mangrove banyak digunakan dalam pengobatan penyakit kulit, kusta, bisul, tuberkulosis, kaki gajah, malaria dan lain-lain. Diketahui mangrove mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid dan terpenoid yang memiliki potensi sebagai antibiotik (Pambudi dan Haryonto, 2022). Hal tersebut membuktikan bahwa banyak aktivitas di dalam tubuh mangrove dan besarnya peranan metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai obat.

2.1.5 Mikroba Endosimbion Mangrove

Mikroba endosimbion adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan serta mampu membentuk suatu koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa memberikan efek negatif pada inangnya (Christina *et al.*, 2013). Mikroba endosimbion dapat berupa bakteri, jamur, atau mikroba lainnya (Kasi *et al.*, 2015). Mikroba endosimbion mempunyai ukuran mikroskopis yang dapat hidup dalam jaringan tanaman seperti akar, batang, dan daun. Dalam proses pengambilan nutrisi tumbuhan, mikroba endosimbion sangat berperan penting (Prihanto *et al.*, 2019). Mikroba endosimbion mangrove merupakan sumber mikroba yang memiliki potensi besar menghasilkan metabolit sekunder yang dimiliki oleh mangrove. Beberapa jenis bakteri endosimbion diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik, antimalaria, dan antifungi (Simanjuntak *et al.*, 2004).

Mikroorganisme endosimbion mangrove dilaporkan dapat memproduksi metabolit unik dan berguna untuk keperluan industri. Bakteri endosimbion maupun jamur endosimbion dapat hidup berdampingan dalam satu tanaman inang. Bakteri endosimbion ditemukan pada hampir semua jenis tanaman (Nursyam dan Prihanto, 2018). Penelitian pada keragaman bakteri endosimbion mangrove (Tabel 2) menunjukkan bahwa tumbuhan mangrove merupakan sumber yang kaya bakteri endosimbion. Contoh bakteri endosimbion dan aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bakteri endosimbion mangrove dan aktivitasnya

No	Bakteri Endosimbion	Asal Mangrove	Aktivitas	Literatur
1	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	Anti HIV	Ding <i>et al.</i> , (2010).
2	<i>Enterobacter hormaechei</i> N6	<i>Rhizophora mucronata</i>	Penghasil gelatinase	Nursyam dan Prihanto (2018).
3	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Excoecaria agallocha</i>	Penghasil enzim lasparaginase	Prihanto <i>et al.</i> , (2019).
4	<i>Rosellomorea vietnamensis</i>	<i>Rhizophora apiculata</i>	Antioksidan	Dat <i>et al.</i> , (2021).
5	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Ceriops tagal</i>	Antimikroba	Haryani <i>et al.</i> , (2020).

2.2 Bakteri Patogen

Patogen adalah organisme yang dapat menyebabkan penyakit (Pardamean *et al.*, 2021). Berbagai jenis patogen dan tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkannya sangat beragam. Patogen membawa penyakit ke inangnya. Nama lain untuk patogen adalah agen infeksi, karena mereka menyebabkan infeksi. Seperti halnya organisme apa pun, patogen memprioritaskan kelangsungan hidup dan reproduksi. Bakteri adalah patogen mikroskopis yang berkembang biak dengan cepat setelah memasuki tubuh. Mereka dapat melepaskan racun yang merusak jaringan dan menyebabkan penyakit (Rybicki *et al.*, 2018).

2.2.1 *Escherichia coli*

Menurut Post dan Songer (2005), klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Filum : Proteobacteria

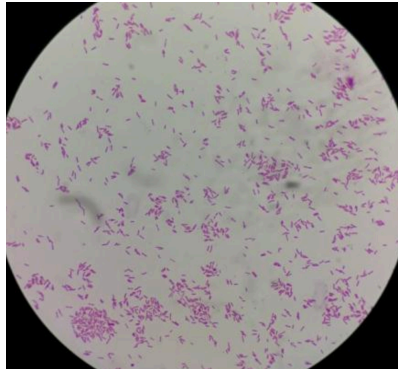
Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 5. *Escherichia coli*
Sumber: Cahyani (2019).

Escherichia coli (*E. coli*) adalah jenis bakteri yang pertama kali diisolasi dan dijelaskan oleh seorang ahli mikrobiologi Jerman bernama Theodor Escherich pada tahun 1885. Oleh karena itu, bakteri ini dinamai berdasarkan namanya, yaitu "*Escherichia coli*" (Escherich, 1886).

E. coli adalah bakteri flora normal yang sering dijumpai pada usus manusia, bersifat unik karena dapat menyebabkan infeksi primer seperti diare. *Escherichia coli* atau *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, yang ada di dalam tubuh manusia, bergerak menggunakan flagel dan berbentuk batang pendek atau biasa disebut kokobasil (Cahyani, 2019).

Secara umum, morfologi koloni *E. coli* diidentifikasi sebagai bentuk kasar atau halus. Kedua bentuk mudah dibedakan, karena koloni yang pertama kasar, datar, dan tidak beraturan dan koloni yang terakhir halus, tinggi, dan melingkar (Jaufred *et al.*, 2018). Lebih spesifik, *E. coli* adalah bakteri berbentuk batang (basil) lurus. Ukuran *E. coli* adalah sekitar $1-3 \text{ m} \times 0,4-0,7 \text{ m}$ (mikrometer). *E. coli* tersusun secara tunggal atau berpasangan. *Escherichia coli* adalah bakteri berflagel dengan susunan flagela peritrik. Bakteri *E. coli* dapat ditemukan di daging mentah, buah dan sayuran, air mentah, tangan yang terkontaminasi, dan susu mentah (Rananda *et al.*, 2016).

Gejala yang ditimbulkan bila seseorang terinfeksi bakteri *E. coli* adalah sakit dan kejang otot perut yang tiba-tiba, diikuti diare dalam 24 jam. Jika tidak teratasi dengan cepat, penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *E. coli* bisa menimbulkan

komplikasi yang berbahaya seperti diare berdarah, nekrosis dari jaringan usus, *hemorrhagic colitis* (HC) dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) (Rananda *et al.*, 2016).

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Garrity *et al.*, (2007) adalah:

Kingdom : Monera

Filum : Firmicutes

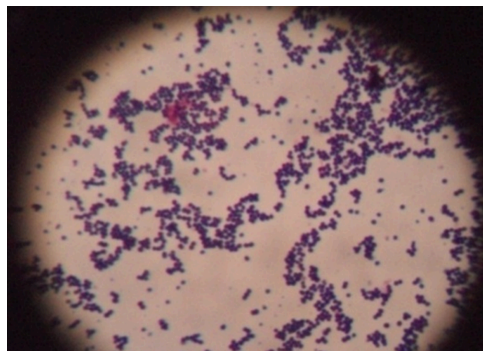
Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*.



Gambar 6. *Staphylococcus aureus*

Sumber: Toelle dan Lenda (2014).

Alexander Ogston menemukan bahwa *Staphylococcus* dapat menyebabkan infeksi luka setelah memperhatikan sekelompok bakteri dalam nanah dari abses bedah selama prosedur yang dilakukannya. Dia menamakannya *Staphylococcus* setelah penampakannya yang bergerombol terlihat jelas di bawah mikroskop (Ogston, 1880). Nama *Staphylococcus aureus* berasal dari bahasa Yunani, yaitu *staphyle* yang berarti kumpulan anggur dan *cocci* yang berarti bulat, sedangkan nama *aureus* berasal dari bahasa Latin yang berarti emas, karena pada koloni terlihat berwarna emas (Freeman *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri

Gram positif dengan sel berbentuk bulat yang menyerupai anggur. *S. Aureus* mempunyai ukuran sel dengan diameter 1 μm , bersifat patogen, tidak bergerak (non-motil) dan tidak membentuk spora (Freeman *et al.*, 2005).

Bakteri *S. aureus* merupakan mikroba berbahaya yang bisa menyebabkan infeksi pada kulit atau meracuni makanan sehingga menimbulkan penyakit serius pada manusia. *S. aureus* biasanya hidup pada jaringan kulit dan lubang hidung manusia. Dalam kondisi sehat dan normal, bakteri *S. aureus* tidak menginfeksi karena tubuh kita memiliki sistem pertahanan bernama antibodi. Infeksi biasanya dipicu oleh luka luar atau penetrasi bakteri melalui makanan yang tercemar. Dalam jumlah terbatas bakteri *S. aureus* juga terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus* seperti pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit. Beberapa antibiotik yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan *S. aureus* antara lain ampicilin, penisilin, tetrasiklin, kloksasilin, sefalosporin, vankomisin, dan metisilin (Jawetz *et al.*, 2007).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2022 - Juni 2023 dan berlokasi di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung. Pengambilan sampel dilakukan di hutan mangrove Desa Margasari, Kabupaten Lampung Timur.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Alat yang digunakan

No	Alat	Keterangan	Kegunaan
1	Autoklaf	1 unit	Sterilisasi alat dan bahan.
2	Bunsen	1 unit	Sterilisasi didalam laminar airflow.
3	Cawan petri	Anumbra 100x15 mm	Wadah media tumbuh mikroba.
4	<i>Coolbox</i>	1 unit	Alat penyimpanan sampel.
5	<i>Coolpack</i>	1 unit	Alat pendingin pada <i>coolbox</i> .
6	Erlenmeyer	300 mL	Alat pembuat media.
7	Gelas ukur	500 mL	Pengukur pelarut saat membuat media.
8	<i>Hot plate</i>	1 unit	Penghomogenkan media.
9	Inkubator	1 unit	Tempat inkubasi mikroba dengan suhu terkontrol.
10	Jangka sorong	1 unit	Pengukur zona bening.
11	Jarum ose	1 unit	Digunakan untuk menginokulasi mikroba.
12	Jas lab, masker, sarung tangan	1 unit	Alat pelindung dasar.
13	Kaca preparat	25,4 mm x 76,2 mm	Wadah identifikasi mikroskopis dan uji Gram.
14	<i>Laminar airflow</i>	Nuaire NU-126-400E	Tempat kegiatan penelitian.

Tabel 3. Alat yang digunakan (lanjutan)

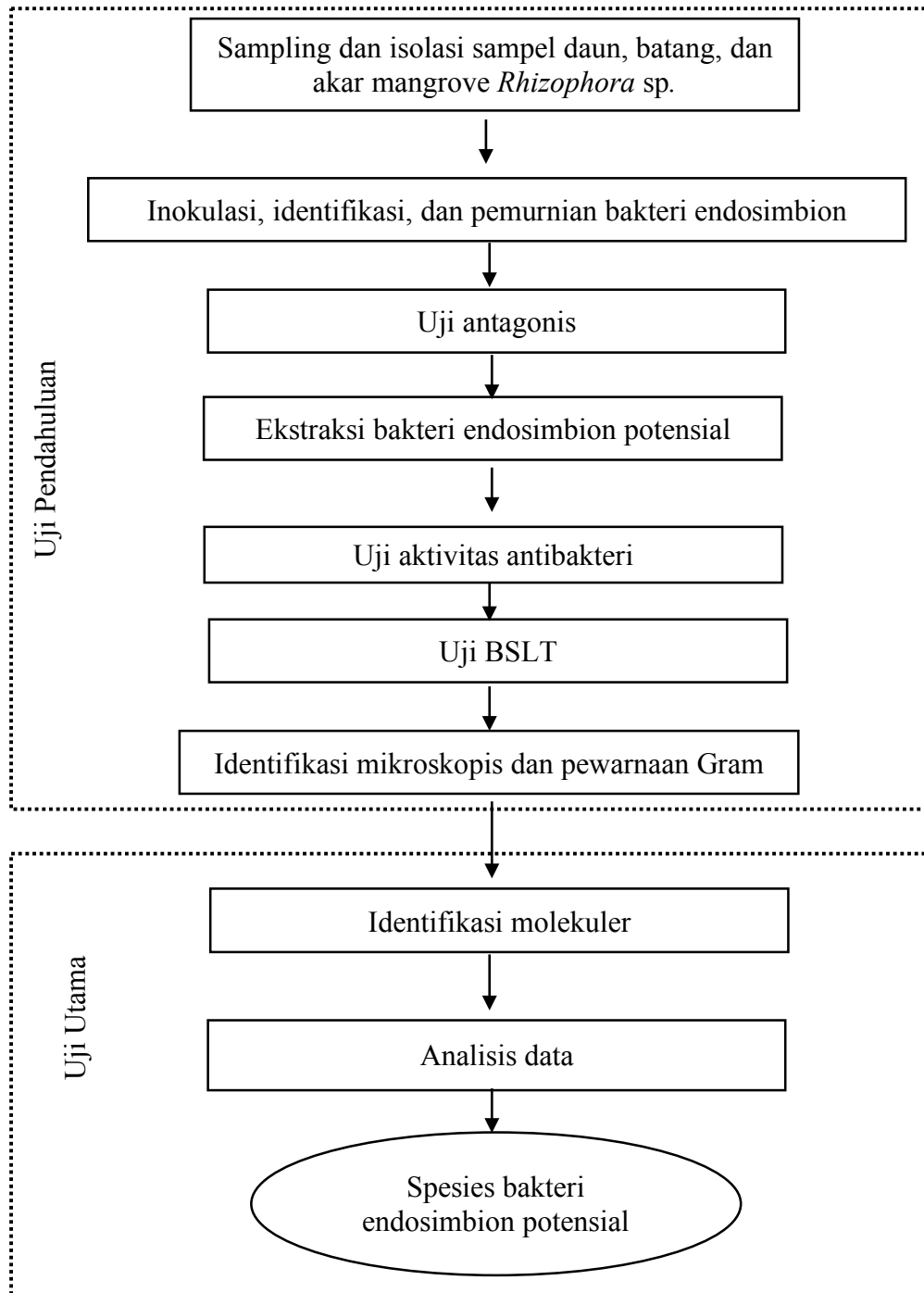
No	Alat	Keterangan	Kegunaan
15	Laptop	1 unit	Pencatat dan pengolah data hasil uji.
16	Lemari pendingin	1 unit	Penyimpan media kosong.
17	<i>Log book</i>	1 unit	Tempat Pendataan mikroba.
18	Mikropipet	1 unit	Alat pemindah cairan dengan volume kecil.
19	Mikroskop	1 unit	Alat identifikasi mikroskopis.
20	Mega 6, Bioedit		Aplikasi analisis data sekuensis.
21	NCBI <i>internet site</i> (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)		<i>Website</i> gen bank.
22	Pinset	1 unit	Alat penjepit.
23	Pipet tetes	1 unit	Alat pemindah cairan.
24	Pisau	1 unit	Alat pemotong dan penyayat sampel.
25	<i>Shacker</i>	1 unit	Pencegah penggumpalan bakteri patogen.
26	<i>Spreader</i>	1 unit	Penyebar bakteri.
27	Tabung reaksi	15 mL	Wadah media tumbuh isolat dan bakteri patogen.
28	Timbangan digital	1 unit	Alat penimbang media.
29	<i>Water bath, vortex, GD Column, sentrifus, microtube</i>		Alat ekstraksi DNA.
30	Tabung PCR, mesin PCR		Alat PCR.
31	Tank elektroforesis, UV <i>transulaminator</i>		Alat elektroforesis.
32	Plastik klip	3 unit	Wadah sampel.

Tabel 4. Bahan yang digunakan

No	Bahan	Keterangan	Kegunaan
1	Air laut steril	1.000 mL	Sebagai pelarut media.
2	Alkohol	1.000 mL	Disinfektan, sterilisasi alat dan diri.
3	<i>Artemia salina</i>	40 larva	Hewan uji toksisitas.
4	Akuades	1.000 mL	Sebagai pelarut media, untuk sterilisasi pada autoklaf.
5	<i>Escherichia coli</i>	-	Bakteri patogen.
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Bakteri patogen.
7	Kloramfenikol	250 mg	Sebagai kontrol +, menghindari kontaminasi media.
8	Kristal violet, larutan lugol, safranin, minyak imersi, KOH 3%		Bahan uji Gram.
9	Media NA	200 mL	Media tumbuh bakteri potensial dan patogen.
10	Media cair NB	250 mL	Media tumbuh bakteri patogen.
11	Metanol	1.000 mL	Pelarut ekstraksi.
12	Nistatin	1%	Pencegah kontaminasi oleh jamur.
13	PBS, Proteinase K, Buffer S 2, GSB buffer, Elution buffer, etanol PCR mix (enzim,		Bahan ekstraksi DNA.
14	MgCl ₂ , fD1 (forward), rP2 (reverse), template DNA)		Bahan PCR.
15	Gel agarose, TBE 0.5x, DNA loading dye, Marker 1.000bp		Bahan elektroforesis.

3.3 Metode Penelitian

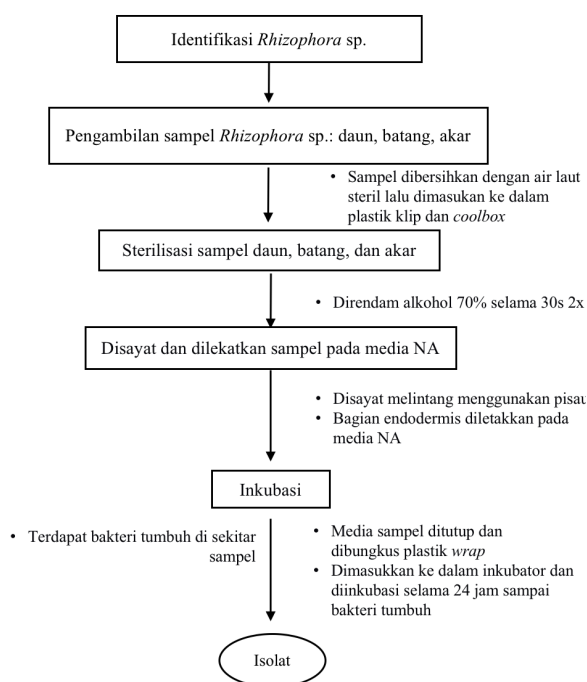
Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah kualitatif deskriptif. Diagram alir metode penelitian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel Mangrove *Rhizophora* sp. dan Isolasi Bakteri Endosimbion

Sampel mangrove yang digunakan akan diperoleh dari hutan mangrove Desa Margasari, Kabupaten Lampung Timur. Prosedur sampling dan isolasi sampel mangrove *Rhizophora* sp. dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengambilan sampel dan isolasi sampel mangrove *Rhizophora* sp.

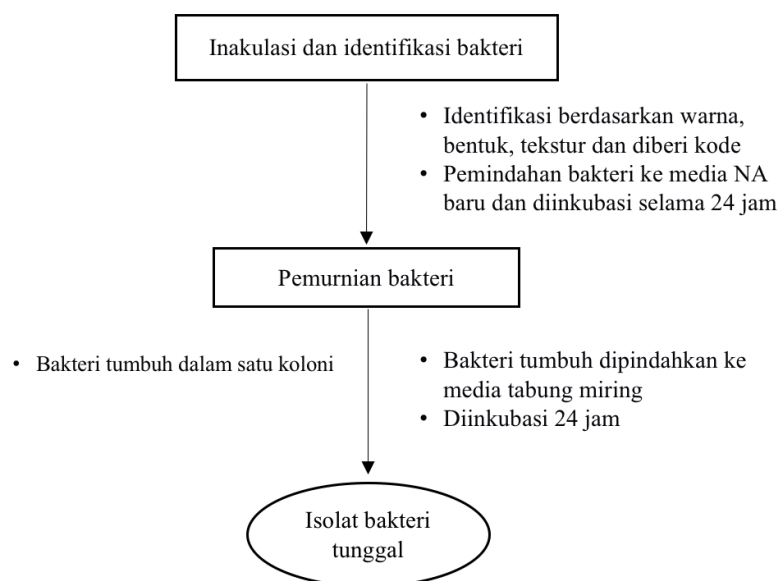
Mangrove *Rhizophora* sp. diidentifikasi dengan cara menyamakan morfologi dengan literatur menurut Noor *et al.*, (2006). Bagian mangrove yang diambil adalah bagian daun, ranting, dan akarnya. Sampel mangrove diambil, kemudian dibersihkan menggunakan air laut steril. Setelah sampel diambil, sampel dimasukkan ke dalam plastik klip dan disimpan di dalam *coolbox* kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan sterilisasi dan isolasi. (Andriani, 2016).

Isolasi adalah sebuah proses untuk menumbuhkan bakteri yang berasal dari sampel pada media. Isolasi dilakukan dengan cara menyayat sampel (daun, batang, dan akar) dan meletakkan sayatan tersebut pada media. Sampel daun, batang, dan akar mangrove dikeluarkan dari dalam *coolbox* untuk dilakukan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 30 detik. Perendaman dilakukan sebanyak 2

kali untuk memastikan sampel dalam keadaan steril. Selanjutnya, daun, batang, buah, dan akar, disayat melintang menggunakan pisau, lalu diletakkan ke dalam cawan yang telah berisi media NA. Bagian yang diletakkan ke dalam cawan adalah endodermis atau bagian dalam sayatan. Kemudian cawan dibungkus menggunakan plastik *wrap*. Setelah dibungkus, cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang (Rismawati, 2018).

3.3.2 Inokulasi, Identifikasi dan Pemurnian Bakteri Endosimbion

Setelah terjadi pertumbuhan bakteri endosimbion, dilakukan inokulasi ke media cawan natrium agar (NA) untuk memisahkan isolat yang terletak berdekatan pada saat isolasi. Inokulasi merupakan proses pemindahan suatu mikroorganisme (bakteri) dari media lama ke media yang baru. Prosedur inokulasi dan identifikasi dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Inokulasi, identifikasi, dan pemurnian bakteri

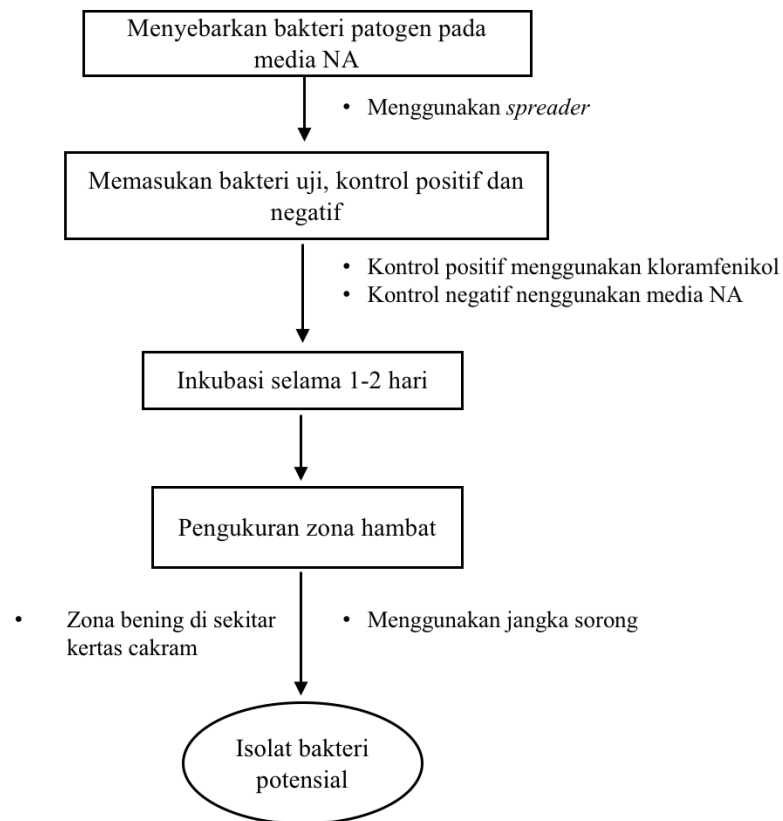
Kegiatan inokulasi sering disebut juga sebagai peremajaan. Mula-mula sampel yang di sekitarnya ditumbuhi bakteri ditandai dan diberikan kode untuk mempermudah identifikasi. Bakteri yang telah diberi kode sebagai isolat terpilih dipindahkan ke media NA yang baru dan diinkubasi. Isolat yang telah tumbuh diidentifikasi berdasarkan karakteristik warna, bentuk, dan tekstur. Pemberian kode isolat

bakteri diberikan berdasarkan jenis mangrove (R=Rhizophora), asal bagian bakteri endosimbion (A=Akar, B=Batang, D=Daun), jenis isolat (B=Bakteri), dan nomor berdasarkan ulangan pengambilan sampel dan urutan bakteri.

Bakteri yang memiliki karakteristik yang berbeda dengan bakteri lainnya ditandai. Cara penandaan isolat yaitu dengan pemberian kode berupa huruf berdasarkan jenis bakteri, titik pengambilan sampel, dan bagian mangrove. Bakteri yang telah tumbuh pada media inokulasi dipindahkan untuk dilakukan proses pemurnian di media tabung miring agar didapatkan satu koloni dan diberi nama/label sesuai bagian mangrove, urutan isolat, kemudian diinkubasi kembali diinkubator selama 24 jam. Bakteri murni yang telah tumbuh disimpan pada suhu rendah $<10^{\circ}\text{C}$. Untuk penyimpanan bakteri dalam waktu cukup lama (maksimal 60 hari) dapat disimpan pada suhu dibawah sampai -80° (Sulistiyani, 2014).

3.3.3 Uji Antagonis

Uji antagonis dilakukan untuk melihat aktivitas bakteri endosimbion terhadap bakteri patogen. Uji antagonis sering disebut uji konfirmasi untuk melihat darimana aktivitas daya hambat berasal. Aktivitas daya hambat dapat berasal dari sel dan juga senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Uji aktivitas dilakukan dengan metode *kirby bauer* atau difusi menggunakan kertas cakram (Parija, 2009). Langkah kerja uji antagonis dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Uji antagonis isolat bakteri

Isolat bakteri potensial diinokulasikan ke media cair (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri patogen di-*spread* ke dalam cawan berisi media NA menggunakan *spreader*. Kertas cakram ditetesi dengan bakteri uji yang sudah tersedia dengan menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ L, 1 kertas cakram diisi dengan kontrol positif menggunakan larutan kloramfenikol dengan kadar 1%, kemudian diinkubasi kembali selama 1-2 hari untuk dilihat ada atau tidaknya zona hambat (Nuria et al., 2009).

Setelah uji dilakukan dan zona hambat terbentuk, kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dicatat. Aktivitas isolat jamur terhadap bakteri uji dapat diklasifikasikan berdasarkan besar diameter zona hambat. Susanto *et al.*, (2012), mengkategorikan zona hambat seperti pada Tabel 5. Langkah kerja uji antagonis dapat dilihat pada Gambar 10.

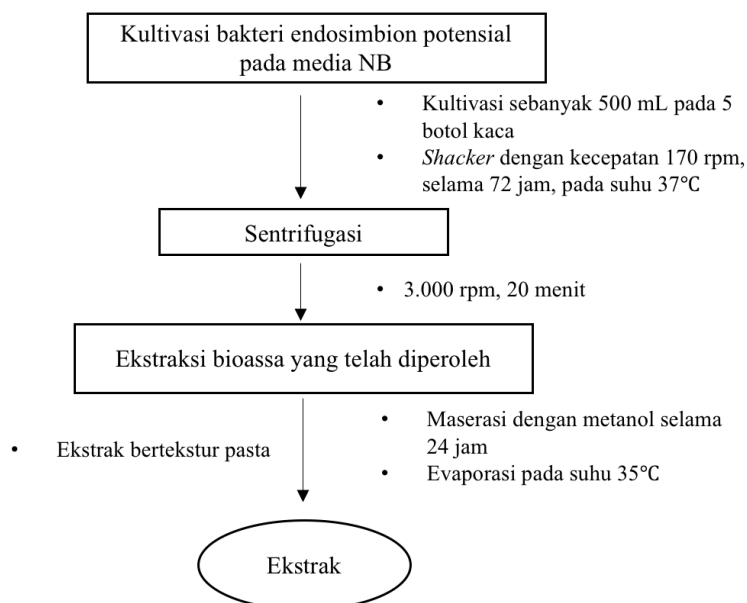
Tabel 5. Kategori zona hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	lemah
6-10 mm	sedang
11-20 mm	kuat
≥ 21 mm	sangat kuat

Sumber: Susanto *et al.* (2012)

3.3.5 Ekstraksi Bakteri Endosimbion Potensial

Ekstraksi adalah sebuah proses yang dilakukan untuk mendapatkan bahan atau senyawa yang terkandung didalam sel bakteri. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian yaitu metode maserasi berdasarkan Yati (2018). Prosedur metode ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Ekstraksi bakteri endosimbion potensial

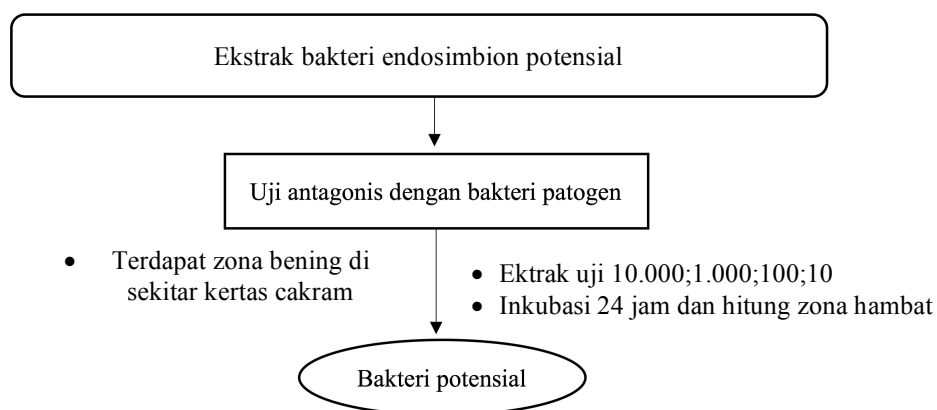
Bakteri endosimbion mangrove potensial dikultivasi dengan cara menumbuhkan bakteri dalam media NB sebanyak 500 mL lalu diguncang menggunakan *shacker* dengan kecepatan 170 rpm, selama 72 jam pada suhu 37°C. Hasil fermentasi di-

sentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dan biomassa (Yati *et al.*, 2018).

Biomassa yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan metanol menggunakan perbandingan (1/2: volume biomassa/volume metanol) dan didiamkan selama 1x24 jam. Lapisan atas (fase metanol) dituang ke dalam erlenmeyer, sedangkan residu cairan media (lapisan bawah) diikutkan ke ekstraksi berikutnya. Fase metanol selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 35 °C sehingga diperoleh ekstrak kental, untuk digunakan pada uji aktivitas ekstrak bakteri endosimbion mangrove terhadap bakteri patogen yakni *E.coli* dan *S. aureus* (Yati, 2018).

3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas ekstrak antibakteri menggunakan metode *Kirby bauer* yang mengacu pada Selvakumar *et al.*, (2007). Prosedur uji aktivitas ekstrak dapat dilihat pada Gambar 12.



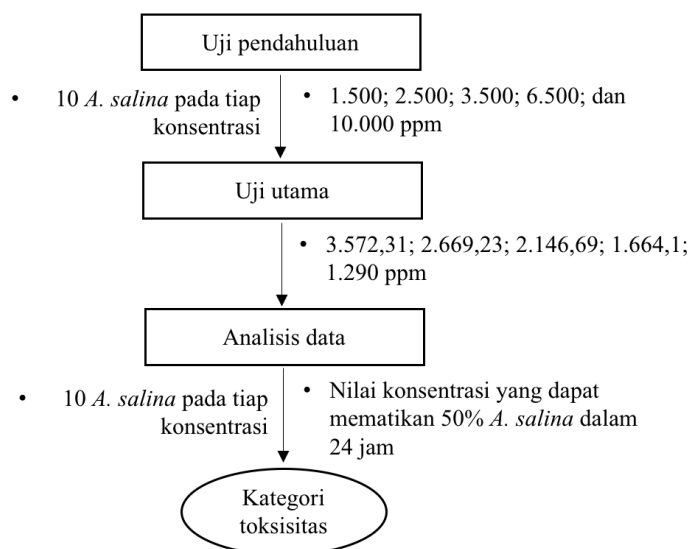
Gambar 12. Uji antagonis ekstrak bakteri endosimbion potensial

Ekstrak diuji tantangan dengan *E. coli* dan *S. aureus* untuk melihat aktivitas ekstrak bakteri potensial terhadap patogen. Bakteri patogen disebarkan ke cawan media NA menggunakan *spreader*. Kertas cakram ditetesi dengan ekstrak yang sudah tersedia dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda yaitu 10.000; 1.000; 100; dan 10 ppm menggunakan mikropipet sebanyak 20 µL, 2 kertas cakram lainnya diisi

kontrol positif dengan kloramfenikol 1%. Kemudian diinkubasi kembali selama 1-2 hari untuk dilihat ada atau tidaknya zona hambat (Pratiwi, 2015).

3.3.7 Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Brine shrimp lethality test (BSLT) merupakan salah satu metode pengujian toksisitas untuk mengetahui potensi sifat toksik dari suatu senyawa alam yang diproduksi dari suatu ekstrak terhadap sel dengan menggunakan bioindikator hewan uji *Artemia salina*. Metode BSLT memiliki prosedur menentukan nilai LC_{50} dengan melihat aktivitas komponen aktif terhadap gejala yang ditimbulkan *A. salina* sebagai hewan uji (Diastuti *et al.*, 2009). Tahap-tahap uji BSLT dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Uji toksisitas ekstrak bakteri endosimbion potensial

Uji toksisitas BSLT mengacu pada penelitian Irawan (2014) dengan modifikasi. Uji toksisitas dilakukan 2 uji yaitu uji pendahuluan dan uji utama. Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan ambang batas atas dan ambang batas bawah dalam uji lanjut BSLT. Ambang batas atas merupakan konsentrasi terendah dari bahan uji yang dapat menyebabkan kematian pada semua hewan uji dalam waktu 24 jam, sedangkan ambang batas bawah adalah konsentrasi tertinggi dari bahan uji yang dapat menyebabkan kematian pada semua hewan uji setelah waktu pemaparan selama 48 jam.

Digunakan konsentrasi yang berbeda dalam uji pendahuluan yaitu 1.000; 2.500; 3.500; 6.500 dan 10.000 ppm, serta menggunakan 10 mL air untuk setiap konsentrasi tersebut dan diletakkan 10 *A. salina*. Setelah hewan uji diletakkan, wadah tabung ditempatkan di bawah pencahayaan dan setelah 12 jam dilakukan pengamatan untuk menghitung jumlah larva *A. salina* yang mengalami kematian. Kematian larva *A. salina* dinilai berdasarkan kriteria standar, yaitu ketika larva *A. salina* tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. (Irawan, 2014).

Uji utama menggunakan konsentrasi yang ditentukan berdasarkan ambang batas atas dan ambang batas bawah yang telah diidentifikasi pada uji pendahuluan sebelumnya. Untuk menentukan LC₅₀- 24 jam dari bahan uji tersebut interval konsentrasi pendugaan LC₅₀- 24 jam yang digunakan dengan persamaan menurut Yunita *et al.*, (2009).

$$\text{Log } \frac{N}{n} = k - \log \frac{a}{n} \quad (1)$$

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} \quad (2)$$

Keterangan :

N : Konsentrasi ambang atas

n : Konsentrasi ambang bawah

a : Konsentrasi yang dikehendaki setelah ambang batas bawah

K : Jumlah konsentrasi yang diuji

Dari hasil uji pendahuluan didapatkan ambang batas atas 3.500 ppm dan ambang batas bawah 1.000 ppm. Berdasarkan nilai ambang batas dan bawah dilakukan perhitungan interval konsentrasi (Lampiran 4) dan didapat konsentrasi untuk uji utama yaitu 3.572,31; 2.669,23; 2.146,69; 1.664,1; dan 1.290 ppm. Uji utama toksisitas ditentukan dengan melihat besarnya nilai dari LC₅₀ yang dapat mematikan *A. salina* sampai 50 % dan dilakukan perhitungan statistik dengan analisis probit

(*probability unit*). Menurut Nurhayati *et al.*, (2006), efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian dengan persamaan

$$\% \text{ Moralitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \quad (3)$$

Setelah mengetahui persentase mortalitas larva *A. salina*, kemudian dihitung nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier.

$$Y = a + bX \quad (4)$$

LC₅₀- 24 jam dihitung dengan mengambil nilai anti-log dari M, di mana m adalah logaritma dari konsentrasi zat toksik pada Y = 5, yang merupakan nilai probit 50% dari hewan uji. Ini digunakan dalam pembentukan persamaan regresi menurut Yunita *et al.*, (2009) sebagai berikut:

$$M = \frac{5-a}{b} \quad (5)$$

Keterangan:

Y : Nilai probit

a : Konsentrasi regresi

b : *Slope*/kemiringan regresi

X : Logaritma¹⁰ konsentrasi uji

Kategori toksisitas pada ekstrak mangrove ditentukan dengan nilai konsentrasi LC₅₀ - 24 jam, seperti yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kategori toksisitas

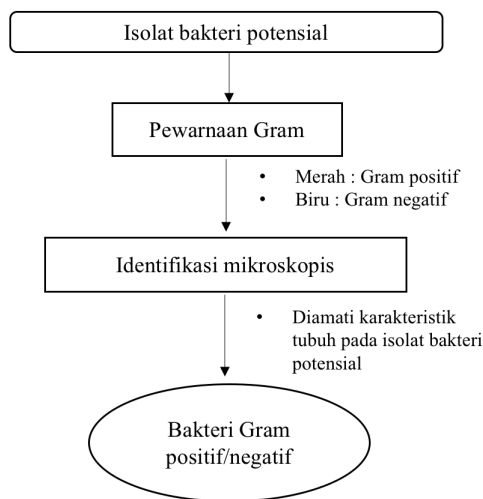
No	LC ₅₀ - 24 jam	Kategori toksik
1	<1000	Toksik
2	>1000	Tidak toksik

Sumber: Puspitasari *et al.*, (2018)

3.3.4 Identifikasi Mikroskopis dan Pewarnaan Gram

Identifikasi mikroskopis dan pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri berdasarkan bentuk tubuh dan warna terhadap dari isolat bakteri

yang memiliki aktivitas daya hambat. Identifikasi mikroskopis dan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Identifikasi mikroskopis dan pewarnaan Gram

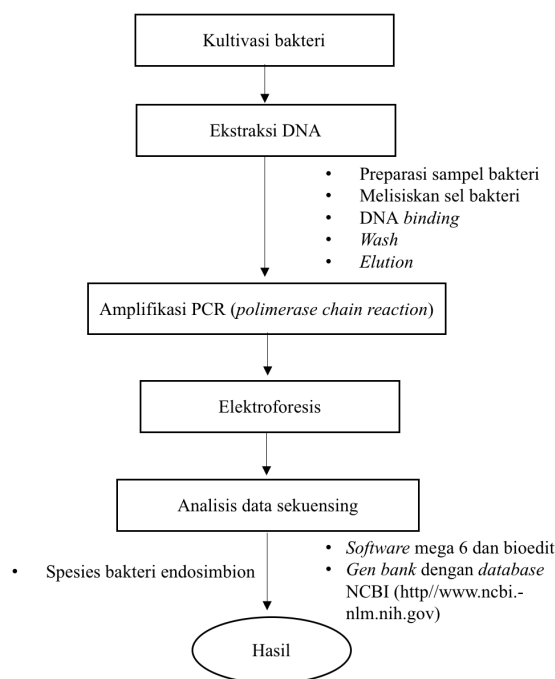
Identifikasi dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop. Isolat bakteri potensial pada media miring diambil sebanyak 1 (satu) jarum ose dan diletakkan di atas gelas objek yang telah ditetesi akuades. Gelas objek yang telah diletakkan bakteri kemudian difiksasi di atas api bunsen. Bakteri selanjutnya diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 (objektif) x 10 (okuler) (Pratiwi, 2015).

Pengujian dengan pewarnaan Gram dilakukan dengan mengoleskan koloni bakteri potensial di atas permukaan kaca preparat yang sudah diberi tetesan akuades dan difiksasi dengan api bunsen agar bakteri menempel pada kaca preparat. Kemudian ditetaskan larutan pada gelas objek dan didiamkan selama satu menit. Kristal violet kemudian dicuci dengan akuades. Larutan lugol ditetaskan pada bakteri yang telah dibilas menggunakan akuades. Selanjutnya gelas objek ditetesi alkohol 96 %, dan digoyang-goyangkan selama 30 detik. Olesan dibilas dengan akuades dan digenangi dengan pewarna tandingan yaitu safranin selama 30 detik, kemudian dibilas dengan akuades. Olesan tersebut dikeringkan dan ditetesi dengan minyak imersi untuk pengamatan menggunakan mikroskop. Bakteri Gram negatif

akan berwarna merah muda, sedangkan bakteri Gram positif akan berwarna ungu atau biru gelap (Pratiwi, 2015).

3.3.8 Identifikasi Molekuler

Identifikasi isolat bakteri endosimbion yang terpilih dari magrove *Rhizophora* sp. asal Lampung Timur, dilakukan secara molekuler dengan tahapan-tahapan ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, pembuatan gel agarose, elektroforesis, dan analisis data sekuensing. Identifikasi bakteri dideterminasi dilakukan menggunakan sekuen 16S rRNA. Gen 16S rRNA dianalisis secara lengkap di Genetika Science Indonesia, Tangerang, Indonesia. Langkah-langkah identifikasi molekuler dapat dilihat pada Gambar 15:



Gambar 15. Identifikasi molekuler

3.3.8.1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA adalah serangkaian proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ekstraksi DNA dilakukan melalui proses preparasi sampel, melisiskan sel, DNA binding, pencucian, dan *elution*. Tahapan ekstraksi DNA adalah

proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Pada ekstraksi DNA, metode yang digunakan adalah metode ekstraksi DNA Kit (*geneaid DNA purification kit*). Langkah-langkah ekstraksi DNA mengacu pada Rismawati (2018) sebagai berikut:

1) preparasi sampel bakteri

Sampel bakteri dikultivasi dan diinkubasi selama 1x24 jam. Sampel bakteri kemudian dipanen lalu dimasukkan 200 μ L sampel ke dalam tabung *mikrocentrifuge* 1,5 mL steril yang telah diisi 200 μ L PBS (*phospat buffer saline*) selanjutnya ditambahkan 20 μ L proteinase K. Sampel lalu dihomogenkan dengan cara *pipetting*, kemudian diinkubasi pada 90°C selama 30 menit pada *water bath* (Rismawati 2018).

2) melisiskan sel bakteri

Tahap melisiskan bakteri dimulai dengan memasukkan *carrier RNA* ke dalam tabung *microcentrifuge* sebanyak 0,6 μ L. Ditambahkan 200 μ L *buffer S 2* ke dalam tabung *microcentrifuge* sebanyak 500 μ L, lalu *vortex*. Ditambahkan proteinase K sebanyak 200 μ L lalu *vortex*. diinkubasi selama 10 menit. Ditambahkan 200 μ L *GSB buffer* lalu *vortex*, kemudian diinkubasi selama 10 menit (Rismawati 2018).

3) *DNA binding*

DNA binding dimulai dengan menambahkan etanol 200 μ L lalu di-*vortex* selama 10 detik. Kemudian dipindahkan semua campuran tersebut ke dalam *GD Column* (*spin column*), disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 1 menit. Dibuang *collection tube* yang berada di bawah *spin column* lalu diganti dengan *collection tube* yang baru (Rismawati 2018).

4) *wash* (pencucian)

Pencucian dilakukan dengan ditambahkan 400 μ L *buffer W1* pada sampel lalu disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan yang sama, kemudian dibuang cairan yang ada pada *collection tube*. Ditambahkan 600 μ L *wash buffer* (*geneid*) dan

disentrifugasi selama 1 menit, lalu dibuang kembali cairan pada *collection tube* dan disentrifugasi kembali selama 3 menit. Dibuang *collection tube* dan diletakkan *microcentrifuge* steril pada bagian bawah *spin column* (Rismawati 2018).

5) *elution*

Elution dilakukan setelah tahap pencucian dengan menambahkan 100 μL *elution-buffer* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung *microcentrifuge* disimpan pada -40°C untuk digunakan sebagai *template* PCR (Rismawati 2018).

3.3.8.2. Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

PCR (*polimerase chain reaction*) memiliki tiga tahapan, yaitu denaturasi dengan suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* dengan suhu 55°C selama 30 detik, dan ekstention dengan suhu 72°C selama 1 menit. Prosedur PCR dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel dan akuades sebagai kontrol negatif. “PCR mix” (enzim, MgCl_2 , fD1 (*forward*), rP2 (*reverse*), *template* DNA) dimasukkan ke dalam tabung PCR (Rismawati 2018).

Amplifikasi dilakukan menggunakan mesin PCR (*DNA thermal cycler*). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal denaturasi pada suhu 95°C selama 15 menit, selanjutnya 95°C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 15 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 30 siklus, dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit dan $12^{\circ}\text{C} \pm 30$ menit untuk penyimpanan (Rismawati 2018).

3.3.8.3 Elektroforesis

Tahap pertama dalam elektroforesis adalah pembuatan gel agarose. Agarose dibuat dengan melarutkan 2 g agarose (BioRad) dalam 100 mL 10 tris borate EDTA (*ethylene diamine tetra acid*) (100 g tris base, 27,5 g asam borat, 20 mL 0,5 M EDTA pH 8,0 dalam 1 liter air). Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut (bening). Selanjutnya ditambahkan 2 μL . *ethidiumbromida* dan dimasuk-

kan dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir. Gel agarosa ditunggu sampai memadat (sekitar 30 menit) (Rismawati, 2018).

Gel agarose kemudian dimasukkan ke dalam *tank* elektroforesis yang berisi larutan TBE 0,5x. DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan DNA *loading dye* dimasukkan ke dalam sumur dengan perbandingan 2:1 (DNA sampel : DNA *loading dye*), lalu dimasukkan *marker* 1.000 bp setelah keseluruhan sampel telah dimasukkan. Elektroda dihubungkan dengan *power supply*, kemudian dinyalakan selama 1 jam (60 menit). Kemudian alat elektroforesis dimatikan dan gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan ke dalam UV *transulaminator*, kemudian diamati hasilnya pada komputer (Rismawati, 2018).

3.3.8.4 Analisis Data Sekuensing

Gen 16s rDNA dianalisis secara lengkap di Genetika Science Indonesia untuk memperoleh urutan rantai DNA. Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program *software* Mega 6 dan Bioedit. Hasil sekuensing dari masing-masing *primer forward* dan *reverse*, selanjutnya dilakukan penggabungan dengan merubah hasil sekuensing *reverse* untuk dilakukan pembalikan berpasangan (*reverse complement*). Analisis *sequence alignment* dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (*query*) dengan sekuens yang telah ada pada Gen Bank dengan *database searches* NCBI *internet site* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Ukuran fragmen hasil amplifikasi PCR ditentukan dengan cara dibandingkan antara posisi ukuran penanda DNA (*marker*) dengan ukuran fragmen sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya *band* pada ukuran 996 bps (Rismawati, 2018).

V. PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan hasil berupa:

1. Isolat bakteri endosimbion mangrove *Rhizophora mucronata* RBB 1.11 memiliki aktivitas antibakteri pada uji pendahuluan terhadap patogen *E. coli* dengan zona hambat sebesar 4,06 mm dan pada patogen *S. aureus* sebesar 6,26 mm. Pada uji aktivitas ekstrak memiliki zona hambat pada patogen *E. coli* sebesar 8,16 mm dan pada patogen *S. aureus* sebesar 11,7 mm.
2. Hasil identifikasi molekuler dari hasil yang diperoleh bakteri endosimbion potensial yang didapat dari mangrove *Rhizophora mucronata* adalah bakteri *Bacillus safensis*.

4.2 Saran

Saran dari penelitian adalah dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakterisasi senyawa aktif yang terkandung dalam bakteri potensial yang didapat agar dapat menjadi bionatural produk yang dapat dimanfaatkan masyarakat,

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelli, F., Jardak, M., Elloumi, J., Stien, D., Cherif, S., Mnif, S., dan Aifa, S. 2019. Antibacterial, anti-adherent and cytotoxic activities of surfactin(s) from a strain *Bacillus safensis* F4. *Biodegradation*. 30(2019):287–300.
- Andriani, R. 2016. Pengenalan alat-alat laboratorium mikrobiologi untuk mengatasi keselamatan kerja dan keberhasilan praktikum. *Jurnal Mikrobiologi* 1(1):1-7.
- Batool, N., Ilyas, N., dan Shahzad, A. 2014. Asiatic mangrove (*Rhizophora mucronata*) – an overview. *European Academic Research* 2(3):3348-3363.
- Barati, S., Rayegani, B., Saati, M., Sharifi, A., dan Nasri, M. 2011. Comparison the accuracies of different spectral indices for estimation of vegetation cover fraction in sparse vegetated areas. *The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Sciences*. 14: 49–56.
- Bhore, S. J., dan Sathisha, G. 2010. Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World J. Agric. Sci.* 6(4): 345-352.
- Cahyani, R. P. 2019. *Pengaruh Rendaman Kulit Pisang Kepok (Musa balbisiana) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. [Tesis]. Universitas Muhammadiyah Surabaya. 46 hal,
- Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C., dan Mahillon, J. 2019. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* Group. *Front. Microbiol.* 10(302):1-19.
- Christina, A., Christopher, V., dan Bhore, S. J. 2013. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: *An overview*. *Pharmacognosy Review*. 7(13): 11–16.
- Chikmawati, T., Wijayanto, A., dan Miftahudin. 2009. *Potensi Selaginella sebagai Antioksidan*. Seminar Nasional Biologi XX. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. Hal 342-347.

- Dalimunthe, C. I., dan Rachmawan, A. 2017. Prospek pemanfaatan metabolit sekunder tumbuhan sebagai pestisida nabati untuk pengendalian patogen pada tanaman karet. *Warta Perkaratan*. 36(1):15 – 28.
- Dat, T. T. H., Oanh, P. T. T., Cuong, L. C. V., Anh, L. T., Minh, L. T. H., Ha, H., Lam, L. T., Cuong, P. V., dan Anh H, L. T. 2021. Pharmacological properties, volatile organic compounds, and genome sequences of bacterial endophytes from the mangrove plant *Rhizophora apiculata* Blume. *Antibiotics*. 10(1491):1-23.
- Diastuti, H., Warsinah., dan Purwati. 2009. Aktivitas antikanker ekstrak ethanol daun *Rhizophora mucronata* terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan Sel Raji. *Molekul*. 4(1):12-20.
- Ding, L., Munch, J., Goerls, H., Maier, A., Fiebig, H. H., Lin, W. H., dan Hertweck, C. 2010. Xiamycin. A pentacyclic indolosesquiterpene with selective anti-HIV activity from a bacterial mangrove endophyte. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 20(2010):6685–668.
- Escherich, T. 1886. Contributions to the knowledge of the intestinal bacteria. III. On the occurrence of vibrios in the intestinal canal and the bowel movements of infants. *Munch. med. Exchange rate*. 33:815-835.
- Fitria, F., Pujiyanto, S., Raharjo, B., Rahmani, N., dan Yopi, Y. 2017. Pemurnian parsial dan karakterisasi enzim xilanase dari bakteri laut *Bacillus safensis* strain LBF P20 asal Pulau Pari Jakarta. *Agritech*, 37(1):30-37.
- Freeman, C. L., dan Freeman, C. K. 2005. *Deadly diseases and epidemics Staphylococcus aureus infection*. Chelsea House Publishers. Amerika. 182 hal.
- Garrity, G. M., Lilburn, J. R., Cole, S. H., Harrison, J., Euzeby., dan Tindall, B. J. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7*. Michigan State University Board of Trustees. Michigan. Hal 364-464.
- Hadi, M. A., Irawati, M. H., dan Suhadi. 2016. Karakteristik morfo-anatomi struktur vegetatif spesies *Rhizophora Apiculata* (*Rhizoporaceae*). *Jurnal Pendidikan*. 1(9):1688-1692.
- Hanh, N. P. K., Kim, S. H., Kim, G. J., Choi, H., dan Nam, D. H., 2018. The complete genome sequence of a marine sponge-associated bacteria, *Bacillus safensis* KCTC 12796BP, which produces the anti-allergic compounds. *Korean Journal of Microbiology*. 54(4):448-452.
- Haryani, Y., Hilma, R., Delfira, N., Martalinda, T., Puspita F., Friska, A., Juwita, D., Farniga, A., dan Ardi, F. 2020. Antibacterial activity of *Achromobacter* sp. and *Bacillus* sp., bacterial endophytes derived from mangrove *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Robb. *The 2nd International Conference on Chemistry and Material Science (IC2MS)*. 833(2020):1-6.

- Hanif, A., dan Susanti, R., 2017. Analisis senyawa antifungal bakteri endofit asal tanaman jagung (*Zea Mays L.*). *Agrintech*. 1(1):23-29.
- Irawan, B., Muadz, S., dan Rosadi, A. 2013. Karakterisasi dan kekerabatan tumbuhan mangrove Rhizophoraceae berdasarkan morfologi, anatomi dan struktur luar serbuk sari. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*. Hal 289-297.
- Irawan, O. 2014. *Uji Toksisitas Ekstrak Akar Tuba (Derris elliptica) Dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Benih Ikan Mas (Cyprinus carpio)*. [Skripsi]. Universitas Lampung. 103 hal.
- Jauffred, L., Munk, V. R., Korolev, K. S., Brown, S., dan Oddershede, L. B. 2017. Chirality in microbial biofilms is mediated by close interactions between the cell surface and the substratum. *ISME Journal* .11(7):1-14.
- Jawetz, E., Melnick, L. J., dan Adelberg, A. E., 2007. *Mikrobiologi Kedokteran EGC*. Jakarta. 862 hal.
- Kabir, M. H., Unban, K., Kodchasee, P., Govindarajan, R. K., Lumyong, S., Suwannarach, N., Wongputtisin, P., Shetty, K., dan Khanongnuch, C. 2023. Endophytic bacteria isolated from tea leaves (*Camellia sinensis var. assamica*) enhanced plant growth promoting activity. *Agriculture*. 13(533):1-18.
- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowor, P. M., dan Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri jamur endofit daun mangrove *Avicennia Marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus Aureus* dan *Shigella Dysenteriae*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 3(1):112-117.
- Koomnok. C., Teaumroong. N., Rerkasem. B., dan Lumyong. S. 2007. Diazotroph endophytic bacteria in cultivated and wild rice in Thailand. *Science Asia*. 33(2007):429-435.
- Kusmana. C., Onrizal., dan Sudarmadji. 2003. Jenis-Jenis Pohon Mangrove di Teluk Bintuni, Papua. *Fakultas Kehutanan IPB dan PT Bituni Utama Murni Wood Industries*. Bogor. 64 hal.
- Kusumawati, D. E., Pasaribu, F. H., dan Bintang, M. 2014. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes [L.] Benth.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Curr. Biochem*. 1(1):45-50.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Situasi diare di Indonesia*. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. Jakarta. 44 hal.

- Mayer, F. L., dan Kronstad, J. W. 2017. Disarming fungal pathogens: *Bacillus safensis* inhibits virulence factor production and biofilm formation by *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. *mBio*. 8(5):1-22.
- Melki., Soedharma, D., Effendi, H., dan Mustopa. A. Z. 2011. Biopotensi tumbuhan mangrove untuk pencegahan penyakit vibrosis pada udang windu. *Maspari Journal*. 2(1): 39-47.
- Muharni., Fitrya., Farida, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman obat suku musu di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 7(2):127-135.
- Nebula, M., Harisankar, H. S., dan Chandramohanakumar, N. 2013. Metabolites and bioactivities of *Rhizophoraceae* mangroves. *Nat. Prod. Bioprospect*. 3:207–232.
- Negara, K. S. 2014. Analisis implementasi kebijakan penggunaan antibiotika rasional untuk mencegah resistensi antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi kasus infeksi methicillin resistant *Staphylococcus Aureus*. *J Adm Rumah Sakit Indonesia*.1(1):42-50.
- Noor, R. Y., Khazali, M., dan Suryadiputra, I, N, N. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia (cetakan ulang ketiga)*. PHKA/WI-IP. Bogor. 220 hal.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto. R. 2006. Uji toksisitas ekstrak *Euclidean alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai studi pendahuluan potensi anti kanker. *Akta Kimindo*. 2(1):41-46.
- Nuria, C. N. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. 5(2):26-37.
- Nursyam, H., dan Prihanto, A. A. 2018. Identifikasi molekuler bakteri endofit mangrove *Rhizopora mucronata* penghasil gelatinase (MMP2). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 143-147.
- Ogston, A. 1883. Micrococcus poisoning. *J. Anat.Physiol*. 17:24-58.
- Oktavia, N., dan Pujiyanto, S., 2018. Isolasi dan uji antagonisme bakteri endofit tapak dara (*Catharanthus Roseus, L.*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*. 1(1):6-12.
- Padayao, M. H. R., Padayao, F. R. P., Patalinghung, J. M., Rana, G, S. Yee, J., dan Geraldino, P. J., Quilantang, N. 2023. Antimicrobial and quorum sensing inhibitory activity of *Bacillus safensis* EPB9 isolated from the red alga *Halymenia durvillei*. *Microbiology society*. 29 hal.

- Pambudi, D. B., dan Haryoto. 2022. Efektivitas farmakologi senyawa aktif tumbuhan mangrove yang hidup di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan* 15(1):39-57.
- Pardamean, E. S., Syawal, H., dan Riau waty, M. 2021. Identifikasi bakteri patogen pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang dipelihara dalam keramba jaring apung. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 26(1):26-32.
- Parija, S. C. 2009. *Textbook of Microbiology and Immunology*. Elsevier. India. 682 hal.
- Pratiwi, B. E. 2015. *Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri*. [Skripsi]. UIN Jakarta. 66 hal.
- Prihanto, A. A., Ardiansyah, R. F., dan Pradarameswari, K. A. 2019. Identifikasi molekuler bakteri endofit penghasil L-asparaginase yang diisolasi dari mangrove buta-buta (*Excoecaria agallocha*). *JPB Kelautan dan Perikanan*. 14(1):29-34.
- Priyalaxmi, R., Murugan, A., Raja, P., Raj, K. D. 2014. Bioremediation of cadmium by *Bacillus safensis* (JX126862), a marine bacterium isolated from mangrove sediments. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(12):326-335.
- Priya, V., Mallika, J., Surapaneni, K. M., Saraswathi, P., Chandra, S.G. 2010. Antimicrobial activity of pericarp extract of *Garcinia mangostana* Linn. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. 1(8):278-281.
- Purnobasuki, H. 2004. Potensi mangrove sebagai tanaman obat. *Biota*. 9(2):125-126.
- Post, K. W., dan Songer, G. J. 2005. *Microbiology Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. Elsevier Saunders. Philadelphia. 448 hal.
- Puspitasari, E., Rozirwan., dan Hendri, M. Uji toksisitas dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT) pada ekstrak mangrove (*Avicennia Marina*, *Rhizophora Mucronata*, *Sonneratia Alba* dan *Xylocarpus Granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*. 18(1):91-103.
- Qisti, D. A., Putri, E. N. E., Fitriana, H., dan Irayani, S. P., dan Pitaloka, S. A. Z. 2021. Analisis aspek lingkungan dan perilaku terhadap kejadian diare pada balita di Tanah Sareal. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2(6):1661-1668.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3):113-124.

- Rahim, S., dan Baderan, D. W. K. 2017. *Hutan Mangrove dan Pemanfaatannya*. Deepublish. Yogyakarta. 78 hal.
- Rananda, M. R., Djamal, A., dan Julizar. 2016. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* O157:H7 dalam daging sapi yang berasal dari rumah potong hewan Lubuk Buaya. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(3):614-617.
- Rismawati, R. 2018. *Identifikasi bakteri endofit daun mangrove api-api putih (Avicennia marina) dan potensinya menghasilkan senyawa anti mikroba* [Disertasi]. Universitas Islam Negeri Alauddin: Makassar. 97 hal.
- Rohaeti, E., Batubara, I., Lieke, A., dan Darusman, L, K. 2010. Potensi ekstrak *Rhizophora sp.* sebagai inhibitor tirosinase. *Prosiding Semnas Sains III*. IPB, Bogor. Hal 196-201.
- Rong, S., Xu, H., Li, L., Chen, R., Gao, X., dan Xu Z. 2019. Antifungal activity of endophytic *Bacillus safensis* B21 and its potential application as a biopesticide to control rice blast. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 162:69-77.
- Rybicki, J., Kisdi, E., dan Anttila, J, V. 2018. Model of bacterial toxin-dependent pathogenesis explains infective dose. *Proc Natl Acad Sci USA*. 115(42):10690-10695.
- Satomi, M., La Duc, M. T., dan Venkateswaran, K. 2006. *Bacillus safensis sp. nov.*, isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces. *Internat. J. Syst. Evolut. Microbiol*. 56:1735-1740.
- Shazwan, K. S., Shahari, R., Amri, C, N, A, C., Kassim, Z., dan Ahmad, Z. 2021. Morphological structures of *Rhizophora Apiculata blume* and *Rhizophora Mucronata* Lam. *Sci Herit J*.5(1):01-4.
- Severson, R. J., Moran, T. E., Shrader, D. G., Fields, F. R., Pandey-Joshi, S., Thomas, C. L., Palmer, E. C., Shrout, J. D., Pfrender, M.E., dan Lee, S. W. 2021. Seed-endophytic *Bacillus safensis* strain with antimicrobial activity has genes for novel bacteriocin-like antimicrobial peptides. *Front Microbiol*. 12(734216):1-14.
- Setyawan, A. D., Ulumuddin, Y. I., dan Ragavan, P. 2014. Review: mangrove hybrid of *Rhizophora* and its parental species in Indo-Malayan region. *Nusantara Bioscience*. 6(1):69-81.
- Selvakumar, G., Saha, S., dan Kundu, S. 2007. Inhibitory activity of pine needle tannin extracts on some agriculturally resourceful microbes. *Indian J. Microbiol*. 47:267-270.
- Simanjuntak, P., Bustanussalam., Otovina, D, M., Rahayuningsih, M., dan Said E, G. 2004. Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman *Artemisia annua*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 15 (2):68- 74.

- Son, R dan Cheah Y, K. 2002. Preliminary screening of endophytic fungi from medical plants in Malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 9(2): 23–33.
- Susanto, D., Sudrajat., dan Ruga, R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*. 11 (2), 181-190.
- Sulistiyani, T. R. 2014. *Keragaman Bakteri Endofit Tanaman Kunyit Putih (Curcuma zedoaria) dan Toksisitasnya terhadap Embrio Ikan Zebra*. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 48 hal.
- Subekti, S. 2012. Peran mangrove sebagai ketersediaan materi pangan. *Prosiding SNST ke-3 Tahun 2012*. Semarang. Hal 29-33.
- Syaifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta. 116 hal.
- Takayama, K., Tateishi, Y., dan Kajita, T. 2021. Global phylogeography of a pantropical mangrove genus *Rhizophora*. *Scientific Reports*. 11:7228.
- Tihurua, E. F., Agustiani, E. L., dan Rahmawati, K. 2020. Karakter anatomi daun sebagai bentuk adaptasi tumbuhan penyusun zonasi mangrove di Banggai Kepulauan, Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Kelautan Tropis*. 23(2):255-264.
- Toelle, N. N., dan Lenda. V. 2014. Identifikasi dan karakteristik *Staphylococcus* sp. dan *Streptococcus* sp. dari infeksi ovarium pada ayam petelur komersial. *Jurnal Ilmu Ternak Politeknik Pertanian Negeri Kupang*. 1(7):32-37.
- Wardhani, M. K. 2011. Kawasan konservasi mangrove: Suatu potensi ekowisata. *Jurnal Kelautan*. 4(1):60-76.
- Witriani, W., Endang. L., Kanedi. M., dan Nurcahyani, N. 2014. Bioassay ekstrak *Selaginella willdenowii* dengan brine shrimp lethality test (BSLT). *Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. 2(1):46-49.
- Yati, S. J., Sumpono., dan Candra, N. 2018. Potensi aktivitas antioksidan metabolit sekunder dari bakteri endofit pada daun Moringa Oleifera L. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2(1):82-87.
- Yunita, E. A., Nanik, H. S., dan Jafron, W. H. 2009. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. *Bioma*. 11:11-17.