

Skrining Bakteri Yang Bersimbiosis Dengan Spons Dari Pulau Bakar Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Ulfayani Mayasari (1*), Rizky Amelia Nasution (2)

(1)(2) Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Medan

ulfayani.mayasari@uinsu.ac.id (1*) rizkiamelianst@uinsu.ac.id (2)

ABSTRAK

Simbiosis mutualisme spons dengan bakteri mampu menghasilkan senyawa bioaktif salah satunya ialah sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan melakukan pencarian bakteri yang bersimbiosis dengan spons di Pulau Bakar yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Tahapan penelitian ini yaitu isolasi dan identifikasi bakteri simbiosis spons selanjutnya pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Pada hasil penelitian ini ditemukan 16 jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons. Isolat terbaik yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* ialah SPS4(2)B dengan diameter zona hambat yang ditimbulkan ialah 12,01 mm dan tergolong ke dalam kategori kuat. Dapat disimpulkan bahwa bakteri yang bersimbiosis dengan spons di perairan Pulau Bakaran mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci : Antibakteri, Bakteri Bersimbiosis, Spons, *Escherichia Coli*

ABSTRACT

The symbiotic mutualism of sponges with bacteria is able to produce bioactive compounds, one of which is as an antibacterial. The purpose of this study was to isolate and search for symbiotic bacteria with sponges on Bakar Island that have antibacterial activity against *Escherichia coli*. The stages of this research were the isolation and identification of the sponge symbiont bacteria and then the antibacterial activity testing with the disc diffusion method. The results of this study found 16 types of bacteria that are symbiotic with sponges. The best isolate that was able to inhibit *Escherichia coli* was SPS4(2)B with the diameter of the resulting inhibition zone of 12.01 mm, respectively, and was classified into the strong category. It can be concluded that the symbiotic bacteria with sponges in the waters of Bakaran Island are able to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords : Antibacterial, Symbiont Bacteria, Sponges, Bakar Island.

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Biota laut merupakan sumber daya hayati yang sangat berpotensi untuk dikembangkan dan diolah secara maksimal, spons adalah salah satu biota laut yang sekarang sudah dimanfaatkan sebagai obat alternatif sebab memiliki kemampuan memproduksi berbagai antibiotik dan senyawa aktif yang mampu melindungi tubuhnya dari serangan musuh. Para peneliti telah mengisolasi senyawa antibiotik tersebut dan dihasilkan bahwa senyawa tersebut mampu mengatasi berbagai penyakit pada manusia (Fristiohady dan Haruna, 2020). Spons adalah hewan yang tergolong ke dalam porifera sehingga ia akan menyaring air laut sebagai cara untuk mendapatkan makanannya yakni berupa mikroorganisme atau sisa-sisa organisme yang telah mati. Mikroorganisme tersebut selain dijadikan sebagai makanan juga dijadikan sebagai simbiosis pada spons (Taylor *et al*, 2007). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons serta diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian Angelika *et al* (2019) yang menunjukkan ada tiga jenis isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons laut dengan potensi sebagai antibakteri terhadap uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pulau Bakar adalah salah satu pulau kecil di Indonesia yang berada di gugusan pulau perairan Sibolga/Tapanuli Tengah, Provinsi Sumatera Utara yang secara geografis terletak pada titik koordinat 01034'38'' LU dan 98043'04''BT. Bakar adalah kata yang memiliki arti bekal atau makanan. Pulau Bakar secara umum memiliki topografi berupa tebing dengan dengan sebagian pantainya berpasir putih dengan tumbuhan tingkat tinggi (Husada, 2020). Terkait dengan keberadaan asosiasi bakteri dan spons pada Pantai Pulau Bakar Sibolga Tapanuli Tengah sampai sekarang masih sedikit dan kurangnya pengetahuan mengenai mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons laut, maka oleh karena itu perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui keberadaan dan potensi bakteri yang diisolasi dari spons dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, diantaranya ialah bakteri *Escherichia coli*.

2. Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah diperoleh isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut pada pulau Bakar?
2. Apakah bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut pada Pulau Bakar memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*?

3. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut pada pulau Bakar
2. Untuk mengetahui kemampuan antibakteri dari bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut pada Pulau Bakar terhadap bakteri *Escherichia coli*.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah Sebagai bahan bagi pembaca mengenai potensi spons laut dan bakteri yang bersimbiosis dengan spons tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

II. METODE

Isolasi Bakteri Simbion

Sampel segar diangkat dari kedalaman 5-10 m ke atas permukaan laut lalu dibersihkan dan dimasukkan ke dalam plastik berisi oksigen dan disimpan ke dalam cooler box. Diambil 1 gram spons yang telah dihaluskan secara aseptis menggunakan mortar dan stamper lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml air laut steril. Dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai pada pengenceran 10^{-6} (Sembiring, 2021). Selanjutnya diinokulasikan 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} pada media MA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Wantania, 2016). Diambil koloni isolat yang tumbuh lalu dipindahkan pada media MA baru. Isolasi dan inkubasi diulangi sebanyak 2-3 kali hingga diperoleh kultur murni. Isolat yang telah murni kemudian dikarakterisasi.

Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dilakukan berdasarkan morfologi dari koloni bakteri yang telah dimurnikan. Pengamatan dilakukan pada ukuran bakteri, warna, tepian, bentuk dan elevasi koloninya. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui penggolongan bakteri Gram positif atau Gram negatif. Pewarnaan Gram dilakukan dengan pengujian menggunakan larutan kristal violet, selanjutnya lugol, aseton alcohol dan yang terakhir dengan larutan safranin. Selanjutnya dilihat warna yang dihasilkan dari uji pewarnaan Gram tersebut. Pengamatan bentuk bakteri dilihat dibawah mikroskop.

Penapisan Aktivitas Antibakteri

Penapisan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebanyak 200 μl suspensi bakteri uji *Escherichia coli* dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah dituang 15 ml MHA, dihomogenkan dan didiamkan hingga memadat. Setelah itu pada permukaan media diletakkan kertas cakram yang telah direndam dengan suspensi bakteri spons lalu diinkubasi selama 24 jam. Diamati dan diukur diameter zona bening disekitar kertas cakram (Nofiani *et al*, 2009).

III. HASIL PENELITIAN

Hasil isolasi bakteri diperoleh sebanyak 16 isolat bakteri yang bersimbion dengan spons asal Pantai Pulau Bakar yakni dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} . Ke-13 isolat tersebut selanjutnya dikarakterisasi secara morfologi, meliputi ukuran, bentuk, elevasi dan margin.

Hasil karakterisasi dapat dilihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Simbion Spons Asal Pulau Bakar

Konsentrasi Pengenceran	Kode Label	Ukuran	Bentuk	Elevasi	Margin
SPS10-4(1)	A	Small	Circular	Rata	Entire
	B	Large	Irreguler	Convex	Undulate
	C	Large	Irreguler	Rata	Lobate
	D	Large	Irreguler	Rata	Undulate
	E	Small	Circular	Convex	Entire
SPS10-4(2)	F	Large	Rhizoid	Rata	Rhizoid
	A	Small	Rhizoid	Rata	Rhizoid
SPS10-5(1)	B	Large	Irreguler	Convex	Undulate
	A	Moderate	Filamentous	Flat	Serrate
	B	Small	Circular	Convex	Entire
	C	Small	Irregular	Rata	Undulate

SPS10-5(2)	A	Moderate	Irreguler	Flat	Undulate
	B	Small	Circullar	Raised	Entire
SPS10-6(1)	A	Large	Irreguler	Rata	Lobate
	B	Small	Circular	Convex	Entire
SPS10-6(2)	A	Large	Irreguler	Rata	Undulate

Berdasarkan tabel 1, diketahui bahwa pengenceran 10-4 merupakan sampel isolat yang cukup mewakili semua koloni bakteri yang tumbuh walaupun jumlah koloni yang tumbuh tidak terlalu padat namun bervariasi.

Proses karakterisasi dilanjutkan dengan pewarnaan gram untuk mengetahui jenis gram isolat bakteri yang ditemukan. Dimana bakteri gram positif akan menunjukkan hasil akhir berupa warna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan menunjukkan hasil akhir berupa warna merah atau merah muda yang menandakan bahwa bakteri hanya dapat terwarnai oleh safranin. Hasil pengamatan mikroskopik dari pewarnaan Gram diperoleh dari keseluruhan isolate, terdapat 13 bakteri yang tergolong bakteri Gram positif yang ditandai dengan warna ungu dan 3 isolat tergolong kedalam bakteri Gram negetif yang ditandai dengan warna merah yang dihasilkan. Bentuk sel bakteri yang ditemukan juga bervariasi, yaitu batang, bulat dan *coccobacilli*. Hal ini dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Symbion Spons Asal Pulau Bakar

Konsentrasi Pengenceran	Kode Label		Bentuk	Jenis
SPS10 ⁻⁴ (1)	A		Bacilli	Ungu (+)
	B		Bacilli	Merah (-)
	C		Bacilli	Ungu (+)
	D		Bacilli	Ungu (+)
	E		Bacilli	Ungu (+)
	F		Bacilli	Ungu (+)
SPS10 ⁻⁴ (2)	A		Coccus	Merah (-)
	B		Coccobacilli	Ungu(+)
SPS10 ⁻⁵ (1)	A		Bacilli	Ungu (+)
	B		Bacilli	Ungu (+)
	C		Bacilli	Ungu (+)
SPS10 ⁻⁵ (2)	A		Coccus	Merah (-)
	B		Bacilli	Ungu(+)
SPS10 ⁻⁶ (1)	A		Bacilli	Ungu(+)
	B		Bacilli	Ungu(+)
SPS10 ⁻⁶ (2)	A		Bacilli	Ungu(+)

Uji aktivitas antibakteri oleh ke-16 isolat terhadap bakteri pathogen *Escherichia coli*, menunjukkan hasil 6 isolat yang mampu menghambatnya dalam waktu 24 jam diantaranya SPS10⁻⁴(1)D, SPS10⁻⁴(1)E, SPS10⁻⁴(2)A, SPS10⁻⁴(2)B dan SPS10⁻⁵(1)A.

Diameter zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3 berikut :

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Bakteri Symbion Spons terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi Pengenceran	Kode Label	Diameter Zona Hambat
SPS10 ⁻⁴ (1)	A	-
	B	-
	C	-
	D	7,02 mm
	E	7,02 mm
	F	-
SPS10 ⁻⁴ (2)	A	8,01 mm
	B	12,01 mm
SPS10 ⁻⁵ (1)	A	12 mm
	B	-
	C	-
SPS10 ⁻⁵ (2)	A	9,01 mm
	B	-
SPS10 ⁻⁶ (1)	A	-
	B	-
SPS10 ⁻⁶ (2)	A	-

Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh isolat potensial antimikroba memberikan tanda bahwa isolat tersebut menghasilkan komposisi kimia yang mampu menghambat kolonisasi mikroba kompetitor lainnya. Komposisi kimia tersebut mempunyai aktivitas antimikroba yang dapat berupa antibiotik, toksin, pigmen dan enzim penghambat (Lubis, 2015). Berdasarkan hasil penapisan terhadap ke-16 isolat, diperoleh 2 isolat terbaik dengan aktivitas zona hambat yang tergolong kuat dalam menghambat *E. coli* Kedua isolat tersebut adalah SPS10⁻⁴(2)B dan SPS10⁻⁵(1)A. SPS10⁻⁴(2)B menghasilkan zona hambat sebesar 12,01 mm. Sedangkan SPS10⁻⁵(1)A menghasilkan zona hambat sebesar 12 mm. Keseluruhan bakteri yang diperoleh selanjutnya diuji kemampuan aktivitas antibakterinya dengan penggunaan kertas cakram.

Dimana kategori daya hambatnya didasarkan pada Kumakauw (2020), yaitu aktivitas zona hambat antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori, yaitu; aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm) dan sangat kuat (>20 mm). Adanya zona hambat yang terbentuk dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya seperti produksi antibiotik, hidrogen peroksida, lisosom, siderphores, protease dan bakteriosin atau dipengaruhi oleh pH media akibat terbentuknya asam organik tertentu oleh suatu jenis bakteri (Sari, 2019). Adanya perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh setiap isolat terhadap masing-masing bakteri uji menunjukkan adanya pengaruh dari metabolit sekunder isolat (Zulfiati, 2018). Selain itu besarnya zona hambat yang dihasilkan oleh suatu isolat juga diindikasikan akibat dari kemampuan yang dimiliki oleh isolat tersebut. Kemampuan menghambat yang dimaksud berkaitan dengan kolonisasi bakteri berupa kemampuan melekat, motilitas dan kemotaksis isolat pada nutrisi dan bahan organik. Hal ini adalah suatu bentuk interaksi antagonistik yang merupakan seleksi terbaik dalam kompetisi ruang dan nutrisi pada lingkungan serta efektif dalam mengontrol populasi mikroba yang tinggal di lingkungan yang sama (Imada *et al*, 2007).

IV. KESIMPULAN

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut asal Pulau Bakar telah diisolasi dan diperoleh 16 isolat dengan 6 isolat yang memiliki zona hambat terhadap *Escherichia coli* yaitu dengan kode isolat; SPS4(2)B (12,01mm), SPS5(2)A (9,01 mm), SPS4(1)E (7,02mm), SPS4(2)A (8,01mm), SPS4(1)D (7,02mm) dan SPS5(1)A (12mm). Dari keseluruhan pengujian diameter tertinggi pada isolat SPS4(2)B yaitu 12,01mm dengan kategori kuat. Perlu dilakukan uji lanjutan terhadap beberapa bakteri patogen lainnya untuk mengetahui potensi dari isolat yang bersimbiosis dengan spons laut asal Pulau Bakar.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelika, L., Widya, A. L., Paulina, V. Y. Y. (2019). Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons *Callyspongia Aerizusa* Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*. 8(2)
- Fristiohady, A. & Haruna, L. A. (2020). Potensi Spons Laut Sebagai Anti Kanker Payudara. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 6(1)
- Husada, I. (2020). Analisis Perbandingan Tutupan Terumbu Karang Di Pulau Bakar dan Pulau Kalimantan Kabupaten Tapanuli Tengah. (Skripsi). Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Imada, C. K. N, Kamata, M. K. T. dan Hamada, N. (2007). Isolation and Characterization of Antibacterial Substances Produced by Marine Actinomycetes in the Presence of Seawater. *The Society for Actinomycetes Japan*. (Vol. 211). 27–31
- Kumakauw, V. V. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal MIPA UNSTRAT*. 9(2): 86-90
- Lubis, S. S. (2015). Penapisan Bakteri Laut Penghasil Antimikroba Dari Pesisir Serdang Bedagai Sumatera Utara. *Journal of Islamic Science and Technology*. 1(1)
- Nofiani, R, Nurbetty, S, Sapar, A. (2009). Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan Kalimantan Barat. Universitas Tanjung Pura: Pontianak
- Rahmat, R., (2007). Spons Indonesia Kawasan Timur: Keragaman, Distribusi, Kelimpahan, dan Kandungan Metabolit Sekundernya, *Jurnal Oseanologi dan Limnologi Indonesia*, (33): 123-138
- Rasyid, Abdullah., dkk. (2018). Profil Metabolit Sekunder, Aktifitas, Antibakteri dan Komposisi Senyawa yang Terkandung dalam Ekstrak Metanol Teripang *stichopus horrens*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*
- Rory, C. A., Kandou, F. E. F. dan Tangapo, A. M. (2020). Isolasi dan Uji Antibakteri dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Koli*. 1(1)
- Rumagit, H. M., Runtuwene, M. R. J. dan Sudewi, S. (2015). Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmiah Farmasi –UNSRAT*. 4(3)
- Sari, D. M., Effendi, I. dan Nursyirwani, (2019). Identifikasi Bakteri Penghasil Antibiotik dari Mikrohabitat Ekstrim di Ekosistem Mangrove Secara Molekuler dan Aktifitasnya Terhadap Bakteri Patogen (*Vibrio Alginolyticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 9(2)
- Sembiring, C, S., dkk. (2021). Isolasi dan Penapisan Bakteri Penghasil Kitinase dan Protease yang Bersimbion dengan Spons *Dragmacidon* sp dari Teluk Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah PLATAX*

Mayasari Ulfayani, Amelia Nasution R : Skrining Bakteri Yang Bersimbiosis Dengan Spons Dari Pulau Bakar Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge associated micro-organisms: evolution, ecology and biotec-nological potential. *Microbiology Molecular Biotechnology. Reviews*, 2: 295- 347

Wantania, L, L ., dkk. (2016). Isolasi Bakteri Simbion Dengan Spons Dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
28 Mei 2022	29 Mei 2022	30 Mei 2022	Ya