

Isolasi Dan Karakterisasi Mikroba Simbion Spons *Axinella sp.* Penghasil Enzim Ekstraseluler Di Kawasan Teluk Tomini Sebagai Antibakteri

Mahdalena Sy. Pakaya¹, Julyanty Akuba^{2*}, Widy Susanti Abdulkadir³, Faramita
Hiola⁴, Rifka Anggraini Anggai⁵, Meri Isriani Pakaya⁶

^{1,2,3,4,5,6} Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga Dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: julyanty@ung.ac.id (Phone/Whatshapp : 081355257707)

ABSTRACT

Live sedentary on a host, symbiont microbes can produce the same bioactive compounds as their host and have antibacterial effectiveness due to the presence of extracellular enzyme sources (e.g., protease enzymes) that produce peptide compounds to disrupt bacterial membranes. This study aimed to isolate and characterize the microbes and examine the antibacterial activity of extracellular enzyme-producing sponge symbionts from the Tomini Bay area. The method used in this study was the direct planting method. Microbial characterization of symbionts consists of macroscopic, microscopic, and enzymatic activity assays. Antibacterial activity testing in this study used the disc diffusion method (Kirby- Bauer). Based on microbial isolation of symbionts examination, it found two bacterial isolates (BS 1 and BS 2) and one fungal isolate (JS). Further, the characterization results disclosed the three isolates' different macroscopic and microscopic characteristics. The results of the three isolates' extracellular enzyme activity test showed that the Enzymatic Activity Index (EAI) value ranged from small to large hydrolytic zones. The result of the antibacterial activity test found that BS 1 and BS 2 isolates have inhibitory activity of 4.09 mm (weak) and 13.258 mm (strong) against *Staphylococcus aureus* bacteria, BS 1 and BS 2 isolates had an inhibitory activity of 4.695 mm (weak) and 3.145 mm (weak) against *Escherichia coli* bacteria, and JS isolates showed inhibitory activity of 23.27 mm (very strong) against *Staphylococcus aureus* and 18.33 mm (strong) against *Escherichia coli*

Keywords:

Axinella sp.; Microbial Symbions; Extracellular Enzymes; Tomini Bay

Received:

2024 -02-01

Accepted:

2024 -03-30

Online:

2024 -03-30

ABSTRAK

Mikroba simbion adalah mikroba yang hidup menetap pada suatu inang, dan biasanya menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti inangnya serta sebagai sumber enzim ekstraseluler seperti enzim protease yang dapat menghasilkan senyawa peptida yang dapat mengganggu membran bakteri sehingga memiliki efektivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi mikroba, serta menguji aktivitas antibakteri simbion spons penghasil enzim ekstraseluler dari kawasan Teluk Tomini. Metode yang digunakan adalah metode tanam langsung. Karakterisasi mikroba simbion meliputi makroskopik, mikroskopik dan uji aktivitas enzimatik, adapun pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Hasil isolasi mikroba simbion yang didapatkan sebanyak 2 isolat bakteri (BS 1 dan BS 2) dan 1 isolat jamur (JS). Hasil karakterisasi

menunjukkan karakteristik makroskopik dan mikroskopis yang berbeda dari ketiga isolat. Hasil uji aktivitas enzim ekstraseluler ketiga isolat memiliki nilai Indeks Aktivitas Enzim (IAE) dengan kategori zona hidrolitik kecil sampai besar. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat BS 1 dan BS 2 masing-masing memiliki aktivitas penghambatan sebesar 4,09 mm (lemah) dan 13,258 mm (kuat) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, isolat BS 1 dan BS 2 masing-masing memiliki aktivitas penghambatan sebesar 4,695 mm (lemah) dan sebesar 3,145 mm (lemah) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan isolat JS menunjukkan aktivitas penghambatan sebesar 23,27 mm (sangat kuat) terhadap *Staphylococcus aureus* dan sebesar 18,33 mm (kuat) terhadap *Escherichia coli*.

Kata Kunci:

Axinella sp., Mikroba Simbion, Enzim Ekstraseluler, Teluk Tomini

Diterima:

01-02-2024

Disetujui:

30-03-2024

Online:

30-03-2024

1. Pendahuluan

Situasi Indonesia saat ini sedang menghadapi masalah *triple burden diseases* (tiga beban penyakit) yang merupakan istilah tiga penyakit yang mengalami peningkatan insidensinya. Salah satunya adalah tingginya angka kematian akibat penyakit infeksi (*re-emerging diseases*) yang berlangsung sangat cepat dan harus segera ditangani. Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh berbagai agen infeksi yang meliputi : virus, bakteri, parasit, maupun jamur[1]. Saat ini antibiotik merupakan satu-satunya andalan dalam pengobatan penyakit infeksi. antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi atau bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Namun, karena penggunaan antibiotik yang tidak rasional, mikroorganisme penyebab infeksi menjadi resisten terhadap antibiotik [2].

Resistensi antibiotik adalah kemampuan mikroorganisme untuk bertahan terhadap efek antibiotik, diantaranya dengan memperoleh gen resisten melalui mutasi atau perubahan/pertukaran plasmid (transfer gen) antar spesies bakteri yang sama dunia [2]. WHO melalui *Global Antimicrobial Surveillance System* (GLASS) telah melakukan survei terhadap 52 negara, menyatakan bahwa terdapat peningkatan resistensi terhadap antibiotik. Fakta tersebut menjelaskan perlunya penemuan senyawa antibakteri, antara lain yang berasal dari bahan alam.

Salah satu sumberdaya alam yang berpotensi memiliki senyawa antibakteri adalah spons. Spons banyak ditemukan di seluruh perairan Indonesia, termasuk di kawasan Teluk Tomini. Teluk Tomini merupakan Kawasan perairan terluas di Indonesia dengan luas permukaan air sekitar 137.700 km² dengan garis pantai sekitar 1.350 km. Teluk Tomini merupakan kawasan teluk terluas di Indonesia yaitu dengan luas > 6 juta hektar. Lokasi ini letaknya tepat di garis khatulistiwa yang memiliki ekosistem laut semi tertutup dengan potensi sumber daya yang melimpah seperti padang lamun, mangrove, terumbu karang, dan biota laut yang mempunyai manfaat dalam berbagai bidang khususnya di bidang kesehatan, salah satu biota laut tersebut adalah spons [3].

Terdapat 63 jenis sponge diperairan Teluk Tomini, diantaranya yang banyak ditemukan yaitu *Haliclona* sp.1, *Axinella* sp., dan *Salvador dali* yang merupakan spons endemik Teluk Tomini. Spons adalah hewan akuatik yang dimanfaatkan manusia sebagai antijamur, antioksidan, antibakteri, serta untuk tujuan terapeutik lainnya. Hasil pengujian antibakteri yang menunjukkan bahwa ekstrak spons jenis *Axinella* sp. mempunyai spektrum yang luas dan aktif terhadap 6 jenis bakteri patogen baik yang bersifat bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhimurium*, maupun bakteri gram positif yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*

dan *Streptococcus mutans*. Hal ini menjadikan spons sebagai hewan penting yang patut dilindungi. Oleh karena itu, Untuk menghindari eksploitasi berlebihan dan menjaga kelestarian populasi spons sebagai alternatif dapat menggunakan mikroba yang bersimbiosis dengan spons [4] [5].

Mikroba simbiosis adalah mikroba yang hidup menetap pada suatu inang, dan biasanya menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti inangnya. Di sisi lain mikroba yang bersimbiosis dengan spons merupakan sumber enzim ekstraseluler yang sangat baik karena permukaan dan ruang internal spons lebih kaya nutrisi. Enzim ekstraseluler adalah enzim yang disintesis dalam sel namun bekerja di luar sel seperti enzim protease, amilase, selulase dan lipase. Enzim-enzim ini dapat digunakan dalam bidang industri yaitu sebagai detergen, kosmetik, makanan, obat-obatan, tekstil dan proses bioremediasi [6],[7].

2. Metode

Desain penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah desain eksperimen, dimana telah dilakukan pengujian isolasi dan karakterisasi mikroba simbiosis spons *Axinella sp.* penghasil enzim ekstraseluler di kawasan Teluk Tomini sebagai antibakteri.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan Autoklaf (*Hirayama*, Japan), Bunsen, Batang Pengaduk, Cawan Petri, Cawan Porselin, Erlenmeyer, Gelas Ukur, Gelas Kimia, Gunting, Inkubator (*Climacell*, Amerika), Inkubator *Shaker* (*Climacell*, Amerika), Disentrifugator Jarum Ose, *Laminar air flow* (Mess,China), Mikropipet (*Eppendorf*, German), Mikroskop (*Nikon Eclipse*, Japan), Oven (*Memmert*, German), Objek Glass, Pipet, Pinset, Penangas, Sendok Tanduk, Timbangan analitik (*Otsuka*, Japan), Tabung Reaksi, dan Tabung Koagulasi. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alkohol 70%, Aluminium foil, Aquades, Aqua Pro Injeksi (*Otsuka*, Jepang), Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, BaCl_2 , Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, Blank Disk CT0998B (*Oxoid*, Amerika), CMC (1%), H_2SO_4 , *Immersion oil*, Kanji (1%), Kertas Label, Kapas, Kertas perkamen, *Ketokonazole*®, *Kloramfenikol* Disk CT0412B (*Oxoid*, Amerika), Kristal Violet, Larutan gram iodine, Lugol (*Merck*, German), Mc farland, NaCl 0,9, *Nutrient Agar* (*Himedia*, India), *Nutrient Broth* (*Himedia*, India), *Potato Dextrosa Agar* (*Himedia*, India), *Potato Dextrosa Broth* (*Himedia*, India), Safranin (*Millipore*, German), Spiritus, Susu Skim (1%), Tween 80 (1%), Tisu, dan *Zobell Marine Agar* 2216 (*Oxoid*, Amerika).

Pengambilan sampel

Sampel spons *Axinella sp.* diambil dengan teknik *snorkling* dari perairan Kawasan Teluk Tomini lebih tepatnya di pantai Desa Mamungaa, Kecamatan Bulawa, Kabupaten Bone Bolango, Gorontalo. Sampel diambil pada saat air laut surut rendah pada kedalaman 3-5 meter. Sampel spons *Axinella sp.* kemudian dimasukkan dalam plastik sampel dan disimpan dalam *coolbox*. Sampel dibawa ke Laboratorium untuk tahapan penelitian selanjutnya.

Sterilisasi Alat

Alat-alat akan digunakan perlu disterilkan terlebih dahulu. Untuk alat gelas seperti tabung reaksi dan cawan petri disterilkan secara panas kering dalam oven dengan suhu 170°C selama 1 jam, jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung pada api, dan media disterilkan menggunakan autoklaf dengan tekanan uap air dengan suhu 121°C dan tekanan 15 lbs atau 1 atm selama 15 menit [8].

Pembuatan Media

Media dibuat dengan cara menimbang media MA yang akan digunakan dan dilarutkan aquades, kemudian diaduk dan dipanaskan di atas *hot plate* setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan *aluminium foil* kemudian disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit [9].

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri yang akan digunakan dibuat suspensi dengan cara menambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 5 ml kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ose kultur bakteri, hingga terjadi kekeruhan setelah itu dibandingkan suspensi bakteri dengan standar kekeruhan dan dibandingkan dengan latar belakang kertas putih, apabila suspensi kurang keruh maka ditambahkan koloni dan apabila lebih keruh perlu ditambahkan NaCl 0,9% [8].

Isolasi Mikroba Symbion Spons

Bagian yang digunakan adalah bagian tubuh spons *Axinella sp.* dalam kondisi segar. Sampel dibersihkan dengan air mengalir, dipotong 1x1 cm menggunakan *scalpel* steril. Potongan direndam dengan alkohol 70% selama 1 menit, larutan natrium hipoklorit 1% selama 5 menit, alkohol 70% selama 30 detik, lalu bilas dengan aquades steril. Pada proses pertumbuhan bakteri, sampel yang steril diletakkan pada media MA yang telah mengandung *ketokonazole*® kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pada proses pertumbuhan jamur, sampel yang sudah steril diletakkan dalam media PDA yang telah mengandung *kloramfenikol*® kemudian diinkubasi dengan suhu 25-28°C selama 3-5 hari, koloni mikroba akan tumbuh disekitar sampel spons [9].

Karakterisasi Mikroba Symbion

Makroskopis Bakteri Symbion

Identifikasi bakteri symbion secara makroskopik dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna, elevasi dan tepi koloni dari masing-masing isolat bakteri symbion [8].

Makroskopis Jamur Symbion

Identifikasi jamur symbion secara makroskopik berdasarkan warna dan permukaan koloni, garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, lingkaran-lingkaran konsentris, serta warna balik koloni [10].

Mikroskopis Bakteri Symbion

Identifikasi bakteri symbion secara mikroskopik dilakukan dengan metode perwarnaan Gram, isolat bakteri symbion diambil dengan jarum ose bulat secara aseptis dan disuspensikan dengan aquades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi di atas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan kristal violet, diamkan selama 1 menit dan dicuci dengan aquades lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan iodine, diamkan selama 1 menit dan dicuci dengan aquades lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan alkohol 95%, diamkan selama 30 detik dan dicuci dengan aquades lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan safranin, diamkan selama 1 menit dan dicuci dengan aquades lalu dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop, bakteri tersebut merupakan Gram positif jika berwarna ungu dan Gram negatif jika berwarna merah [8].

Mikroskopis Jamur Symbion

Identifikasi jamur symbion secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengambil isolat jamur symbion secara aseptis menggunakan jarum ose lurus dan diletakkan di atas permukaan *object glass*, lalu ditetesi *metillan blue* kemudian diamati di bawah mikroskop. Ciri-ciri mikroskopis yang diamati meliputi struktur hifa dan struktur reproduksi [10].

Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler

Masing-masing isolat murni diinokulasikan kedalam 5 mL media NB pada tabung reaksi berbeda, kemudian dihomogenisasi menggunakan vorteks. Isolat diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

Uji Aktivitas Enzim Protease

Media MA disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada cawan petri yang telah berisi susu skim (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam dimasukkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim protease ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram [11].

Uji Aktivitas Enzim Amilase

Media MA disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada cawan petri yang telah berisi kanji (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam dimasukkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim amilase dengan meneteskan larutan gram iodine pada permukaan dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram [11].

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Media MA disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada cawan petri yang telah berisi CMC (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam dimasukkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim selulase dengan meneteskan larutan gram iodine pada permukaan dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram [11].

Uji Aktivitas Enzim Lipase

Media MA disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada cawan petri yang telah berisi Tween 80 (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam dimasukkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim lipase ditunjukkan dengan terbentuknya endapan asam lemak berwarna putih keruh disekitar kertas cakram [11].

Produksi Metabolit Sekunder Dari Mikroba Simbion Bakteri Simbion

Isolat bakteri simbion diinokulasikan pada media NB steril, kemudian disimpan pada *inkubator shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 240 rpm selama 72 jam [8].

Jamur Simbion

Isolat jamur simbion diinokulasikan pada media PDB steril, kemudian disimpan pada *inkubator shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 240 rpm selama 72 jam [8].

Pembuatan Cell Free Supernatan Dari Mikroba Symbion

Suspensi mikroba symbion dimasukan kedalam tabung kemudian disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 60 menit agar terjadi pemisahan antara media NB yang mengandung metabolit sekunder (supernatan) dengan Cell Bakteri (Residu) [8].

Uji Aktivitas Antibakteri dari Mikroba Symbion

Sebanyak 20 µl suspensi mikroba uji dimasukan ke dalam 3 cawan petri kemudian ditambahkan 10 mL media NA. Didiamkan hingga memadat. Kemudian cawan petri yang pertama dimasukkan *paper disk* yang berisi kontrol positif (*kloramfenikol*) dan kontrol negatif aquadest. Sedangkan cawan petri yang kedua dimasukan *paper disk* yang telah direndam supernatan dari isolat bakteri symbion dan untuk cawan petri ketiga juga dimasukan *paper disk* yang telah direndam supernatan dari isolat bakteri symbion. Selanjutnya dilakukan langkah yang sama untuk dilakukan pengulangan (*duplo*) guna mempertegas hasil yang didapatkan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suatu isolat diketahui memiliki aktivitas apabila terbentuk zona bening pada sekitar *paper disk* [8].

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Mikroba Symbion Yang Diperoleh

Tabel 1. Hasil Isolasi Mikroba

Sampel	Mikroba Symbion	
	Bakteri	Jamur
Spons <i>Axinella sp.</i>	BS 1	JS
	BS 2	

Dapat dilihat bahwa bakteri dan jamur symbion tumbuh disekitar sampel spons. Koloni mikroba symbion akan tumbuh disekitar spons yang telah ditanam pada media [9]. Secara makroskopik pada media MA koloni yang terdapat disekitar jaringan spons memiliki morfologi yang berbeda sehingga didapatkan 2 isolat yang diberi kode isolat BS 1 dan BS 2. Sedangkan pada media PDA koloni yang terdapat disekitar spons memiliki morfologi koloni yang sama sehingga dapat dikatakan 1 koloni dan diberi kode isolat JS. Sehingga dapat dikatakan bahwa hasil isolasi mikroba symbion pada sampel spons *Axinella sp.* terdapat 3 isolat yaitu 2 isolat bakteri symbion dan 1 isolat jamur symbion.

Karakterisasi Mikroba Symbion

Makroskopik

Karakterisasi yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui karakterisasi mikroba symbion secara makroskopis dengan mengamati bentuk morfologi dari bakteri symbion dan jamur symbion yang berhasil diisolasi.

Bakteri Symbion

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Morfologi Makroskopis

Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Elevasi Koloni
BS 1	Putih Gading	Tidak Beraturan	Berserabut	Datar
BS 2	Putih Gading	Tidak Beraturan	Berlekuk	Datar

Ciri makroskopis isolat BS 1 memiliki warna putih gading, bentuk koloni tidak beraturan, tepian berserabut dan memiliki elevasi datar, berdasarkan identifikasi makroskopik diduga isolat BS 1 memiliki karakter yang sama dengan bakteri

Actinomycetes. Hal ini sesuai dengan bakteri *Actinomycetes* berbeda dengan mikroorganisme lainnya karena memiliki sifat yang tidak dimiliki oleh bakteri lainnya seperti permukaan bakteri serabut, memiliki warna putih gading, orange dan abu-abu dengan elevasi datar [12]. Sedangkan karakter isolat BS 2 memiliki warna putih gading, bentuk koloni tidak beraturan, tepian berlekuk dan memiliki elevasi datar. Berdasarkan identifikasi makroskopik diduga isolat BS 2 memiliki karakter yang sama dengan bakteri *Micrococcus*. Bakteri *Micrococcus* dengan ciri makroskopis berwarna putih gading, bentuk tidak beraturan, dengan pinggirnya berlekuk, permukaan datar licin dengan ukuran besar [13]. Adapun hasil karakterisasi secara makroskopis bakteri simbiosis isolat BS 1 dan isolat BS 2 dapat dilihat pada (gambar 1) dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Karakterisasi Morfologi Makroskopis Isolat BS 1 Dan BS 2 Bakteri Simbiosis *Spon Axinella sp.*

Jamur Simbiosis

Tabel 3. Hasil Karakterisasi Morfologi

Kode Isolat	Warna Permukaan	Warna Sebaliknya	Tekstur Koloni	Bentuk Koloni
JS	Hitam kekuningan	Putih Kekuningan	Halus Berkapas	Tidak Beraturan

Karakterisasi secara makroskopis isolat JS memiliki warna permukaan hitam kekuningan, warna sebalik berwarna putih kekuningan, tekstur koloni halus berkapas, dan berbentuk tidak beraturan. Dikatakan bakteri dan jamur simbiosis jika warna pada permukaan koloni yaitu putih kekuningan atau putih kental seperti susu [8]. Adapun hasil karakterisasi secara makroskopis jamur simbiosis isolat JS dapat dilihat pada (gambar 2) dibawah ini.



Gambar 2. Hasil Karakterisasi Morfologi Makroskopis Isolat JS

Mikroskopik Bakteri Simbion

Tabel 4. Hasil Karakterisasi Morfologi Mikroskopis

Kode Isolat	Gram	Bentuk
BS 1	Positif (+)	<i>Bacillus</i>
BS 2	Positif (+)	<i>Coccus</i>

Isolat BS 1 termasuk gram positif dengan sel berbentuk basil dan BS 2 termasuk gram positif dengan sel berbentuk kokus. Bakteri simbion dicirikan dengan bentuk sel individu berbentuk batang maupun bulat, dan memiliki bentuk koloni yang bulat, oval atau tidak beraturan (irreguler). Bakteri simbion juga umumnya tergolong dalam bakteri gram negatif atau positif. Perbedaan warna antara bakteri gram positif dan gram negatif terjadi karena perbedaan struktur dinding sel dari kelompok bakteri itu sendiri sehingga dapat menyebabkan terjadinya perbedaan reaksi permeabilitas zat pewarna.

Jamur Simbion

Tabel 5. Hasil Karakterisasi Morfologi Mikroskopis

Kode Isolat	Hifa	Miselium	Jenis Spora
JS	Bersepta	Transparan	Bulat

Isolat JS memiliki hifa bersepta, memiliki miselium transparan dan memiliki spora berbentuk bulat. Dimana ciri-ciri kapang yang berhasil diisolasi memiliki ciri-ciri sporangiofor, miselium dan hifa baik yang bersepta maupun tidak bersepta. Isolat JS diketahui memiliki kesamaan dengan jamur berjenis kapang [14].

Hasil Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler

Indeks Aktivitas Enzim (IAE)

Adanya aktivitas enzim ditandai dengan terbentuknya zona hidrolitik disekitar koloni mikroba simbion. Indeks Aktivitas Enzim (IAE) dapat diukur dengan rumus [15]:

$$\text{Indeks Aktivitas Enzim (IAE)} = \frac{\text{Diameter Zona Hidrolitik}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Enzim Protease

Tabel 6 Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease

Kode Isolat	Diameter Zona Hidrolitik (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Aktivitas Enzim (IAE)	Pembentukan Zona Hidrolitik
BS 1	1,74	9,76	0,17	+
BS 2	15,10	7,50	2,01	++
JS	34,43	18,20	1,89	++

Uji aktivitas enzim protease yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik. Aktivitas hidrolisis secara kualitatif merupakan gambaran dari kemampuan isolat bakteri hidrolitik menghidrolisis substrat dengan membandingkan besarnya zona jernih di sekitar koloni dengan besarnya diameter koloni [16]. Didapatkan hasil bahwa isolat BS 2 (2,10 mm) dan JS (1,89 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar (> 0,2 mm). Sedangkan isolat BS 1 (0,17 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik kecil (< 0,2 mm). Proses hidrolisis menggunakan enzim protease akan menghasilkan senyawa peptida dan asam amino. Pemecahan protein susu menghasilkan fragmen peptida yang bersifat bioaktif sebagai antibakteri. Peptida antimikroba mencegah pertumbuhan atau penghancuran bakteri melalui

mekanisme yang berbeda termasuk mengganggu membran bakteri, mengubah metabolisme, atau berinteraksi dengan komponen sitoplasma [17].

Enzim Amilase

Tabel 7 Hasil Uji Aktivitas Enzim Amilase

Kode Isolat	Diameter Zona Hidrolitik (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Aktivitas Enzim (IAE)	Pembentukan Zona Hidrolitik
BS 1	6,84	7,85	0,87	++
BS 2	10,22	8,34	1,22	++
JS	8,61	16,77	0,51	++

Uji aktivitas enzim amilase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik menunjukkan bahwa ketiga isolat BS 1 (0,87 mm), BS 2 (1,22 mm) dan JS (0,51 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar ($> 0,2$ mm). Bakteri dan jamur yang memiliki aktivitas amilolitik memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase yang disekresikan ke lingkungannya. Enzim α -amilase pada bakteri dan jamur berfungsi untuk mendegradasi polisakarida (karbohidrat) yang merupakan struktur pembentuk biofilm pada sel bakteri [18], [19].

Enzim Selulase

Tabel 8 Hasil Uji Aktivitas Enzim Selulase

Kode Isolat	Diameter Zona Hidrolitik (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Aktivitas Enzim (IAE)	Pembentukan Zona Hidrolitik
BS 1	9,465	8,63	1,09	++
BS 2	17,9	6,74	2,65	++
JS	17,75	16,23	1,09	++

Uji aktivitas enzim selulase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik. Zona bening menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat-isolat bakteri dengan diameter tertentu [20]. Didapatkan hasil uji enzim selulase bahwa ketiga isolat BS 1 (1,09 mm), BS 2 (2,65 mm) dan JS (1,09 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar ($> 0,2$ mm). Glukosa oksidase (GOx) dari bakteri dan jamur selulolitik mengkatalisis oksidasi β -D-glukosa menggunakan oksigen molekuler, menghasilkan H_2O_2 dan asam glukonat, senyawa H_2O_2 memicu reaksi kaskade oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan DNA, gangguan besar pada sintesis protein, dan susunan membran fosfolipid bakteri [21].

Enzim Lipase

Tabel 9 Hasil Uji Aktivitas Enzim Lipase

Kode Isolat	Diameter Zona Hidrolitik (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Aktivitas Enzim (IAE)	Pembentukan Zona Hidrolitik
BS 1	15,245	8,213	1,85	++
BS 2	15,215	13,46	1,13	++
JS	10,75	21,69	0,49	++

Uji aktivitas enzim lipase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik. Zona hidrolisis yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa substrat lemak yang terdapat pada tween 80 telah pecah menjadi asam lemak dan gliserol [22]. Didapatkan bahwa ketiga isolat BS 1 (1,85 mm), BS 2 (1,13 mm) dan JS (0,49 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar ($> 0,2$ mm). Secara

umum kerja asam lemak jenuh sebagai antibakteri adalah langsung beraksi ke target membran sel sehingga menyebabkan kerusakan membran, walaupun secara rinci mekanisme selanjutnya belum dapat dijelaskan [23].

Hasil Uji Aktivitas Mikroba Simbion Sebagai Antibakteri

Tabel 10. Hasil Uji Aktivitas Mikroba Simbion Sebagai Antibakteri

Kode Isolat	Diameter Daya Hambat (mm)					
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	I	II	Rata-Rata	I	II	Rata-Rata
BS 1	3,85	4,33	4,09	5,00	4,39	4,695
BS 2	12,12	14,45	13,258	3,00	3,29	3,145
JS	25,20	21,34	23,27	16,21	20,45	18,33
Kloramfenikol (+)	25,71	24,37	25,04	25,28	25,76	25,52
Aqua Pro Injeksi (-)	-	-	-	-	-	-

Isolat bakteri yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri yaitu isolat BS 1 dan Isolat BS 2. Hasil uji daya antibakteri yang diperoleh bahwa diameter zona hambat yang terbentuk dari ketiga isolat bakteri simbion spons terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dikategorikan sedang. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri simbion spons memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negative [24]. Aktivitas penghambatan jamur JS menunjukkan bahwa jamur simbion spons memiliki zona hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri *Escherichia coli*. Adanya perbedaan komposisi dinding sel antara kedua bakteri uji menyebabkan perbedaan respon terhadap pemberian antibakteri pada kedua bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang terletak di bagian membran luar lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Lapisan peptidoglikan yang tebal tersebut menyebabkan bakteri gram positif lebih peka terhadap pemberian antibakteri. Sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang terletak di bagian membran periplasma, yaitu suatu membran yang terdapat diantara membran plasma (dalam) dan membran luar. Bagian luar tersusun atas lapisan lipopolisakarida (LPS) tebal yang merupakan bentuk pertahanan bakteri gram negatif terhadap zat-zat asing, termasuk senyawa antibakteri [25].

4. Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada spons *Axinella sp.* terdapat 3 isolat mikroba simbion, yakni 2 isolat bakteri simbion (BS 1 dan BS 2) dan 1 isolat jamur simbion (JS) serta karakteristik makroskopik dan mikroskopis yang berbeda. Isolat simbion spons *Axinella sp.* Memiliki aktivitas enzim ekstraseluler berdasarkan pengukuran zona hidrolitik dengan nilai Indeks Aktivitas Enzim (IAE) termasuk dalam kategori zona hidrolitik kecil (<0,2 mm) hingga besar (>0,2 mm). Aktivitas isolat BS 1 dan BS 2 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dimana isolat BS 1 dan BS 2 masing-masing memiliki aktivitas penghambatan sebesar 4,09 mm (lemah) dan 13,258 mm (kuat) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, isolat BS 1 dan BS 2 masing-masing memiliki aktivitas penghambatan sebesar 4,695 mm (lemah) dan sebesar 3,145 mm (lemah) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan isolat JS menunjukkan aktivitas penghambatan sebesar 23,27 mm (sangat kuat) terhadap *Staphylococcus aureus* dan sebesar 18,33 mm (kuat) terhadap *Escherichia coli*.

Referensi

- [1] I. N. K. Besung And N. Kerta, "Pegagan (*Centella Asiatica*) Sebagai Alternatif Pencegahan Penyakit Infeksi Pada Ternak," *Bul. Vet. Udayana*, Vol. 1, No. 2, Pp. 61-67, 2019.
- [2] R. H. Pratiwi, "Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik," *J. Pro-Life*, Vol. 4, No. 3, Pp. 418-429, 2017.
- [3] W. Suwarso, S., Sadhotomo, B., & Wudianto, "Perkembangan Perikanan Pelagis Kecil Di Teluk Tomini: Suatu Pendekatan Ke Arah Manajemen Yang Bertanggung Jawab," *J. Bawal Widya Ris. Perikan. Tangkap*, 2017.
- [4] H. Ma., "Pemanfaatan Limbah Tulang Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Sebagai Gelatin Dan Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Ruang [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor," 2015.
- [5] T. Suryaningrum, T. D., Pramadhany, W. W., & Wikanta, "Penapisan Senyawa Antibakteri Dan Toksisitas Dari Spons Asal Perairan Pulau Bonerate Sulawesi Selatan," *J. Pascapanen Dan Bioteknol. Kelaut. Dan Perikan.*, 2017.
- [6] R. Rangan, L., Ginting, E. L., Wulur, S., Kaligis, E., Tilaar, S., & Tumbol, "Amplifikasi Isolat Bakteri Sf1 Simbion Spons *Facaplysynopsis* Sp. Dari Perairan Tongkakeina, Sulawesi Utara," *J. Lmiah Platax*.
- [7] S. S. Umami, "Karakterisasi Bakteri Simbion Spons Penghasil Enzim Protease Dari Perairan Sekotong Lombok Barat," 2010.
- [8] A. Mahdalena Pakaya., Julianty Akuba., Dizky R. Papeo, Andi Makkulawu., Putri, "Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Simbion Dari Akar Pare (*Momordica Charantia* L)," *J. Syifa Sci. Clin. Res.*, 2022.
- [9] R. B. Mohan G, Thangappanpillai Akt, "Antimicrobial Activities Of Secondary Metabolites And Phylogenetic Study Of Sponge Endosymbiotic Bacteria, *Bacillus* Sp. At Agatti Island," 2016.
- [10] N. Harahap., Israwati., Elsie., Indri, "Isolasi Dan Seleksi Cendawan Simbion Dari Tanaman Betadin (*Jatropha Multifida* L.) Dan Potensinya Sebagai Antimikroba," *J. Phot.*, 2017.
- [11] S. Setyati, Wa, Subagiyo, "Isolasi Dan Seleksi Penghasil Bakteri Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amilolitik, Lipolitik, Dan Selulolitik) Yang Berasal Dari Bakteri Simbion Spons," *J. Ilmu Kelaut.*, 2012.
- [12] M. Marlina, R. Rozirwan, And W. A. E. Putri, "Actinomyces Yang Diisolat Dari Mangrove *Avicennia Alba* Di Perairan Tanjung Api-Api, Sumatera Selatan." Sriwijaya University, 2019.
- [13] S. R. Ayuti *Et AL.*, "Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Positif *Staphylococcus Aureus* Dan *Micrococcus* Pada Peternakan Sapi Yang Terindikasi Mastitis," *J. Peternak. Indones. (Indonesian J. Anim. Sci.*, Vol. 25, No. 1, Pp. 98-109, 2023.
- [14] U. Utami And A. Mujahidin, "Uji Antagonisme Beberapa Fungi Endofit Pada Tanaman Kentang Terhadap *Fusarium Oxysporum* Secara In Vitro," *J. Ris. Biol. Dan Apl.*, Vol. 2, No. 1, Pp. 18-25, 2020.
- [15] D. Istia'nah, U. Utami, And A. Barizi, "Karakterisasi Enzim Amilase Dari Bakteri *Bacillus Megaterium* Pada Variasi Suhu, Ph Dan Konsentrasi Substrat," *J. Ris. Biol. Dan Apl.*, Vol. 2, No. 1, Pp. 11-17, 2020.
- [16] D. Zahidah And M. Shovitri, "Isolasi, Karakterisasi Dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik," *J. Sains Dan Seni Its*, Vol. 2, No. 1, Pp. E12-E15, 2013.

- [17] V. Sinthary And M. J. Arief, "Peptida Bioaktif Kasein Susu Kambing Sebagai Sumber Antimikroba Dan Antioksidan: Review: Bioactive Peptide From Goat's Milk Casein As A Source Of Antimicrobial And Antioxidant," *J. Sains Dan Kesehat.*, Vol. 5, No. 3, Pp. 444-457, 2023.
- [18] A. M. Tangapo And S. M. Mambu, "Penapisan Jamur Rhizosfer Tanaman Ubi Cilembu (*Ipomoea Batatas* Var. Cilembu) Sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler Amilase Dan Selulase," In *Seminar Nasional Biologi*, 2021, Vol. 9, Pp. 91-96.
- [19] M. A. Arofani, "Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antibiofilm *Aspergillus Oryzae* Terhadap *Escherichia Coli* Pada Pasien Infeksi Saluran Kemih." Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2021.
- [20] D. Siruwahni And R. Rasyidah, "Isolasi Dan Aktivitas Bakteri Selulolitik Pada Limbah Diapers," *Bioedusains J. Pendidik. Biol. Dan Sains*, Vol. 6, No. 2, Pp. 407-421, 2023.
- [21] D. Califano, B. L. Patenall, M. A. S. Kadowaki, D. Mattia, J. L. Scott, And K. J. Edler, "Enzyme-Functionalized Cellulose Beads As A Promising Antimicrobial Material," *Biomacromolecules*, Vol. 22, No. 2, Pp. 754-762, 2021.
- [22] A. N. Effendi, "Skrining Aktivitas Antimikroba Bakteri Endosimbion Spons Laut Yang Dikoleksi Dari Pulau Kotok Kecil, Kepulauan Seribu, Dki Jakarta," Pp. 1-54, 2019.
- [23] R. Novita, M. Munira, And R. Hayati, "Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Pliek U Sebagai Antibakteri," *Action Aceh Nutr. J.*, Vol. 2, No. 2, Pp. 103-108, 2017.
- [24] A. Liempepas, W. A. Lolo, And P. V. Y. Yamlean, "Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons *Callyspongia Aerizusa* Serta Identifikasi Secara Biokimia," *Pharmacon*, Vol. 8, No. 2, Pp. 380-387, 2019.
- [25] G. S. Lestari, I., & Pratiwi, "Analisis Kandungan Formalin Pada Ikan Asin Kepala Batu Yang Berada Di Pasar Tradisional Kota Jambi," *J. Ilm. Manuntung*, 2022.