

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN PENAPISAN AKTIVITAS BAKTERI
ENDOFIT TANAMAN LAMUN SEBAGAI ANTI MULTIDRUG-RESISTANT DI
WILAYAH PEISIR KOTA KENDARI**

**MOLECULAR IDENTIFICATION AND SCREENING OF ENDOPHYTIC
BACTERIA ACTIVITY AS AN ANTI MULTIDRUG RESISTANT ON THE
COASTAL REGION OF KENDARI**

Suwarny, Titi Purnama

Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains & Teknologi,
Universitas Mandala Waluya, Kota Kendari, 93561, Indonesia

Corresponding author : suwarny73@gmail.com

Abstrak

Pelaksanaan dan pemberian antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap beberapa jenis antibiotik. Jenis bakteri yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik saat ini dikenal dengan bakteri Multidrug-resisten (MDR). Kurangnya antibiotik baru yang dikembangkan juga menjadi faktor munculnya bakteri MDR. Penelitian antibiotik telah lama dikembangkan oleh peneliti terdahulu, baik dari tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Pada penelitian ini digunakan bakteri endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan lamun. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang memiliki metabolit sekunder >90% sama dengan inangnya. Bakteri yang bersimbiosis dengan organisme pada ekosistem laut telah banyak digunakan sebagai agen yang mengandung berbagai senyawa yang berpotensi dalam bidang kesehatan, industri farmasi dan pertanian. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berasosiasi dengan tumbuhan lamun dan mengetahui aktivitas bakteri endofit tersebut sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, tahapan pertama pengumpulan lamun untuk dilakukan isolasi bakteri endofit tumbuhan lamun. Dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap MDR dari isolat murni bakteri endofit yang diperoleh. Deteksi molekuler bakteri endofit menggunakan primer 16S rRNA. Hasil penelitian ditemukan isolat bakteri dari kedua jenis tanaman lamun berbentuk basil gram positif dengan aktivitas zona hambat terhadap bakteri uji kurang dari 5 mm. Kajian terhadap aktivitas antibakteri bakteri endofit tanaman lamun terhadap bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) menunjukkan bahwa bakteri endofit pada ekosistem lamun di penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri yang kecil terhadap bakteri uji umum.

Kata kunci : anti Multidrug-resistant, Bakteri endofit, Lamun, Molekuler

Abstract

Improper implementation and administration of antibiotics can cause bacterial resistance to some types of antibiotics. The type of bacteria that has been resistant to several types of antibiotics is currently known as Multidrug-resistant bacteria (MDR). The lack of new antibiotics developed is also a factor in the emergence of MDR bacteria. Previous researchers have long developed antibiotic research from plants, animals, and microorganisms. In this study, endophytic bacteria associated with seagrass plants were used. Endophytic bacteria are microorganisms that have secondary metabolites >90% the same as their host. Bacteria that are symbiotic with organisms in marine ecosystems have been widely used as agents containing various compounds that have the potential to be in the fields of health, the pharmaceutical industry, and agriculture. This study aims to identify bacteria associated with seagrass plants and determine the activity of these endophytic bacteria as antibacterials against MDR bacteria. This research was carried out in several stages; the first stage of seagrass collection was to isolate the endophytic bacteria of seagrass plants. Antibacterial activity testing against MDR was carried out from pure isolates of endophytic bacteria obtained. Molecular detection of endophytic bacteria using a 16S rRNA primer. The study found bacterial isolates from both seagrass plants in the form of gram-positive bacilli with an inhibitory zone activity against test bacteria of less than 5 mm. Studies of the antibacterial activity of endophytic bacteria against bacteria (*E. coli* and *S. aureus*) showed that endophytic bacteria had little antibacterial activity against general test bacteria.

Keywords: Anti multidrug-resistant, Endophytic bacteria, Molecular, Seagrass

Pendahuluan

Salah satu tantangan terbesar dalam sistem kesehatan hingga saat ini adalah peningkatan jenis patogen resisten terhadap antibiotik. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri multidrug-resistant (MDR) semakin meningkat dan merupakan salah satu masalah serius bagi kesehatan masyarakat. Pada awalnya, bakteri ini banyak terdapat pada lingkungan rumah sakit, namun sekarang dapat ditemukan dimana-mana. Di antara jenis bakteri gram positif, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* dan *Streptococcus pneumonia* merupakan infeksi yang paling sering ditemukan. Di samping itu kelompok spesies gram negatif yang umum ditemukan yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumonia* (Lozano *et al.*, 2017; Du *et al.*, 2017) .

Meluasnya penggunaan antibiotik secara berlebihan baik pada hewan peternakan, akuakultur dalam spektrum yang luas serta kurangnya pengawasan terhadap penggunaan antimikroba ini, menjadi faktor yang bertanggung jawab atas penyebaran spesies yang rentan terhadap antibiotik (Du *et al.*, 2017). Kenaikan angka prevalensi mikroorganisme patogen resisten antibiotik, menunjukkan bahwa masih sedikit agen antimikroba yang dibutuhkan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri MDR (Cerceo *et al.*, 2016) . Hal ini menimbulkan kekhawatiran bagi peneliti dan dunia kesehatan mengenai ketersediaan antibiotik yang efektif untuk mengobati infeksi jika tidak ada obat baru yang dikembangkan atau ditemukan (Rolain *et al.*, 2016) . Produk antimikroba bahan alam dari tanaman telah banyak diteliti dengan harapan mampu menghambat pertumbuhan patogen yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. Antimikroba ini diharapkan memiliki efektivitas daya hambat yang tinggi, memiliki toksisitas yang rendah dan tentunya memiliki dampak lingkungan yang rendah. Mikroorganisme yang berasosiasi dengan organisme laut telah menjadi target dalam penelitian untuk menemukan senyawa bioaktif terbaru. Salah satu di antaranya adalah pemanfaatan mikroba endofit.

Beberapa mikroorganisme endofit termasuk bakteri dapat berkontribusi sebagai pertahanan dan perlindungan bagi inang melalui produksi antibiotik dan komponen bioaktif lainnya. Dengan demikian, mikroorganisme menawarkan sumber daya hayati yang sangat baik untuk menemukan senyawa baru dengan kemampuan aktivitas biologi yang menarik termasuk di dalamnya sebagai antimikroba, antifungal, antiprotozoal, antituberculosis dan antiviral. Lamun merupakan kelompok tanaman angiospermae yang memiliki kemampuan beradaptasi dan tumbuh di lingkungan laut serta memiliki manfaat ekonomi dan kesehatan (Azkab 2006). Ekosistem lamun kaya akan bahan organik seperti nitrat, karbon, dan fosfat. Potensi kandungan nutrisi yang tersedia di perairan dan sedimen mempengaruhi keberadaan komunitas bakteri asosiatif terhadap tanaman lamun (Ismet *et al.*, 2020). Eksplorasi mengenai potensi tanaman lamun sudah sejak lama dilakukan oleh peneliti, di antaranya adalah mencoba mencari tahu senyawa biokatif yang terkandung di dalamnya. Beberapa organisme endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa dengan yang berasal dari tanaman inang (Zhao *et al.*, 2011).

Saat ini, penelitian untuk mencari senyawa metabolit dari sumber daya hayati di laut mulai meningkat dikarenakan keunikan yang dimiliki oleh organisme tersebut (Jirge & Chaudhari 2010). Beberapa jenis dari lamun telah digunakan sebagai obat tradisional, contohnya di India digunakan untuk mengobati malaria, penyakit kulit, dan infeksi awal lepra. Ekstrak tanaman ini juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Kumar *et al.*, 2008). Hasil penelitian yang dilakukan Ravikumar *et al.*, (2010) menjelaskan mengenai kandungan senyawa bioaktif pada tanaman lamun yang berpotensi sebagai antibakteri. Ismet *et al.*, (2020) dalam penelitiannya menemukan bahwa bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman lamun menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, terutama terhadap bakteri yang memiliki kemampuan membentuk

biofilm. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri endofit yang berasosiasi dengan lamun yang berpotensi sebagai penghasil aktivitas antibakteri di wilayah pesisir kota Kendari

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini bersifat eksploratif, yaitu mengidentifikasi bakteri endofit pada tumbuhan lamun dan mengeksplorasi aktifitas bakteri endofit sebagai antibakterial terhadap bakteri MDR sehingga dapat digunakan sebagai kandidat alternatif dalam terapi antibiotik. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus s/d Oktober 2022 di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium diagnostik molekuler D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Mandala Waluya.

Koleksi spesimen tumbuhan lamun

Pengumpulan specimen tumbuhan lamun dilakukan dengan cara memasukkan tumbuhan lamun yang diperoleh ke dalam plastik steril mengandung 50 mL air laut steril dan segera dimasukkan ke dalam cooling box untuk dibawa ke laboratorium..

Isolasi dan purifikasi bakteri endofit

Daun lamun yang diperoleh dibersihkan menggunakan aquades steril dan kemudian dipotong dengan ukuran panjang sekitar 5 cm. permukaan daun disterilisasi menggunakan etanol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan larutan hypochloride 5.25% selama 1 menit dan dicuci kembali dengan etanol 70% sebanyak tiga kali pencucian. Daun yang telah steril kemudian ditanam pada media kultur dan diinkubasi pada suhu ruang (28 – 30 °C) selama 1 – 2 hari. Setiap koloni bakteri endofit yang menunjukkan morfologi berbeda, akan dimurnikan dan disimpan sebagai isolat murni.

Deteksi bakteri endofit yang menghasilkan senyawa aktif anti – MDR

Sebelum menentukan aktivitas bakteri endofit sebagai anti-MDR, terlebih dahulu dilakukan uji antimikroba terhadap bakteri patogen yang nantinya akan digunakan sebagai pembanding. Pengujian antimikroba terhadap bakteri MRSA dan MDR E.coli dilakukan dengan metode disc diffusion sesuai dengan kriteria Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). Pengujian MDR E. coli menggunakan antimikroba: tetracycline, erythromycin, dan clindamycin. Untuk MRSA menggunakan antimikroba: gentamycin, erythromycin, dan ampicilin. Pengujian aktivitas bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan kertas cakram steril yang dicelupkan ke dalam media biakan bakteri endofit yang akan diuji lalu diletakkan pada media yang telah mengandung bakteri uji (bakteri patogen) yaitu MDR E.coli dan MRSA. Kultur diinkubasi selama 1 hari. Isolat bakteri endofit dikatakan berpotensi sebagai agen antibakteri dilihat dari kemampuannya menghasilkan zona bening terhadap bakteri patogen. Zona bening ataupun zona hambat diukur, dimana ukuran zona bening tersebut akan berbanding lurus dengan aktivitas antimikroba dari bakteri endofit.

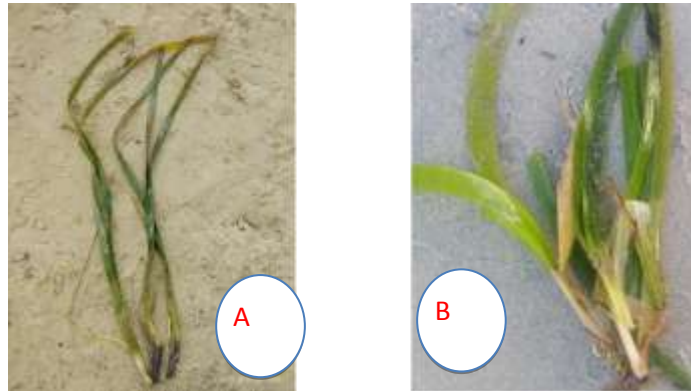
Identifikasi molekuler bakteri kandidat anti MDR

Isolat bakteri terpilih sebagai kandidat anti – MDR berdasarkan hasil uji, kemudian dilakukan pengidentifikasian jenis bakteri menggunakan analisis sekuens 16S rDNA. DNA genom bakteri diekstraksi menggunakan kit Presto™ mini gDNA kit (geneoid). Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer. Primer yang digunakan terdiri atas primer forward 27F (5'-AGAGTTTAGTCCTGGCTCAG-3') dan primer reverse 1495R (5'-ACGGCTACCTTGTTAGGACTT-3'). Proses PCR dilakukan sebanyak 30 siklus pada

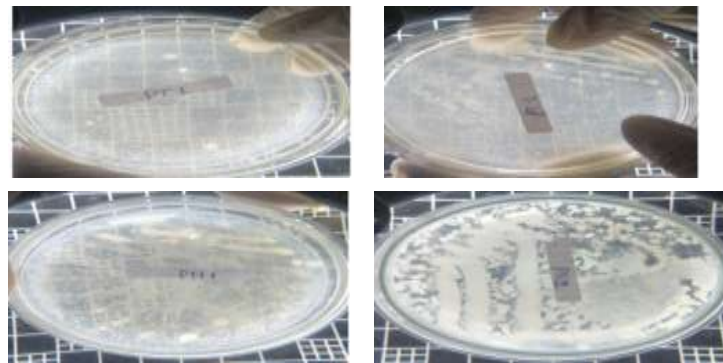
kondisi: pra denaturasi pada suhu 94 °C (3 menit), denaturasi 94 °C (60 detik), annealing pada suhu 55 °C (60 detik), extension pada suhu 72 °C (60 detik) dan final extension pada suhu 72 °C (5 menit). Selanjutnya dilakukan verifikasi menggunakan elektroforesis pada 1,5% gel agarose, 80 volt selama 60 menit dan divisualisasi menggunakan *gel doc* untuk melihat pita DNA yang terbentuk.

Hasil dan Pembahasan

Hasil



Gambar 1. : Jenis lamun di perairan pesisir Kota Kendari (A; *Enhalus acoroides* dan B; *Thalassia hemprichii*)

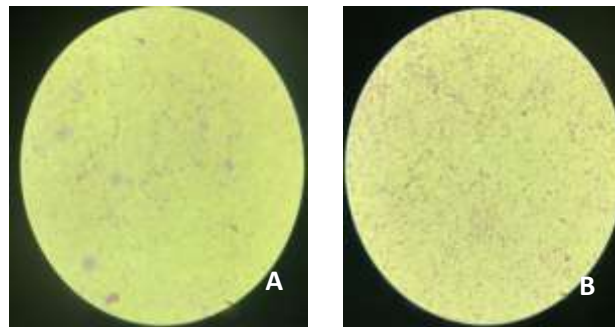


Gambar 2. : Isolat bakteri endofit (PT; Pantai Toronipa dan PN; Pantai Nambo)

Lamun yang diambil dari perairan pantai Nambo adalah jenis lamun *Enhalus acoroides* dengan ciri panjang daun kurang lebih 200 cm dengan lebar daun sekitar 2 cm berbentuk pita tepian daunnya menggulung rimpang berdiameter kurang lebih 1,5 cm dengan ciri banyak akar. Lamun yang diambil dari perairan Toronipa adalah jenis *Thalassia hemprichii* dengan ciri daun yang melengkung menyerupai pita dengan panjang kurang lebih 40 cm batang pendek tegak mengandung 2 – 6 daun rimpang tebal ditutupi bekas daun berbentuk segi tiga (Putra, 2019).

Karakterisasi awal sampel dari dua lokasi dilakukan dengan mengamati hasil kultur secara morfologi. Secara kasat mata, koloni isolat bakteri endofit dari kedua lokasi menunjukkan karakteristik yang berbeda baik dari bentuk, dan konsistensi. Isolat dari Pantai Toronipa berbentuk bulat berwarna putih susu, permukaan cembung

dengan tepian tidak rata, tekstur licin. Isolat dari perairan Nambo berbentuk bulat berwarna putih susu, permukaannya rata ,tepiannya rata dan teksturnya halus.



Gambar 3. : Pewarnaan gram isolat bakteri endofit (A; Isolat PT dan B; Isolat PN)

Hasil pengamatan mikroskopik melalui pewarnaan gram, diperoleh isolat bakteri endofit dari kedua lokasi yang berbeda, menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit merupakan bakteri gram positif (+) dan berbentuk batang. Bakteri gram negatif berwarna merah karena pewarna kristal violet akan hilang saat dicuci menggunakan alkohol dan sewaktu diberi pewarna tandingan safranin pada proses selanjutnya bakteri akan tampak berwarna merah muda. Bakteri gram positif akan mempertahankan pewarna kristal violet saat dicuci menggunakan alkohol, sehingga bakteri tampak berwarna ungu atau biru. Perbedaan tersebut karena adanya perbedaan pada struktur dinding sel dengan memanfaatkan etanol sebagai pemucat yang memucatkan gram negatif dan tidak gram positif.

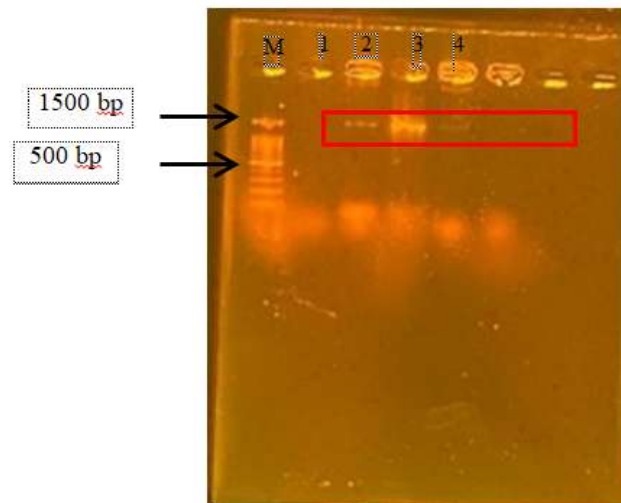
Tabel 1. Hasil Uji Sensitivitas golongan Antibiotik Terhadap Bakteri Uji (*MDR E. coli* dan *MRSA*) untuk menentukan status MDR dibandingkan dengan CLSI 2018

Jenis Bakteri Uji	Jenis Antibiotik	Golongan Antibiotik	Ukuran Zona Hambat (mm)	Keterangan
<i>MRSA</i>	Tetracycline	Tetracycline	10	Resisten
	Erithromycin	Makrolid	1.5	Resisten
	Clindamycin	Linkosamida	3.5	Resisten
<i>MDR E.coli</i>	Erithromycin	Makrolid	5	Resisten
	Ampicilin	Beta Laktam	4.5	Resisten
	Gentamycin	Aminoglikosida	8	Resisten

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit terhadap bakteri uji *Multidrug resistant* (MDR)

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	
	<i>MRSA</i>	<i>MDR E. Coli</i>
PN	1 mm	2 mm
PT	1,5 mm	4 mm

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari bakteri simbiosis spons *Agelas conifera* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*). Bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus* sendiri merupakan bakteri patogen umum yang bersifat Gram negatif (-) (*E. coli*) dan positif (+) (*S. aureus*). Kedua jenis bakteri patogen ini diketahui dapat menyebabkan beragam infeksi pada manusia, *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering menimbulkan penyakit (diare) pada manusia, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada luka. Isolat bakteri endofit dari kedua lokasi memperlihatkan adanya aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri, namun dalam penelitian ini masih kurang dari 5 cm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas bakteri endofit tanaman lamun sebagai anti MDR masih tergolong lemah.



Gambar 4. Hasil elektroforesis isolat bakteri endofit menggunakan primer 16S rRNA. M= Marker, 1–2= PN, 3–4 = PT

Marker yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ukuran pita tertinggi sebesar 1500 bp. DNA bakteri endofit yang telah berhasil diekstraksi memiliki ukuran pita 1500 bp karena terletak sejajar terhadap pita marker yang digunakan. Pita DNA yang divisualisasi masih berbayang (*smearing*) yang menandakan bahwa DNA hasil ekstraksi tersebut masih memiliki pengotor berupa RNA

Pembahasan

Lokasi pengambilan sampel tumbuhan lamun yang digunakan untuk isolasi bakteri endofit, masing-masing memiliki dominasi lamun yang berbeda. Pesisir Nambo memiliki jenis lamun yang didominasi oleh *Enhalus acoroides* dan Pesisir pantai Toronipa didominasi oleh lamun jenis *Thalassia hemprichii*. Ciri-ciri spesifik dari jenis lamun *Enhalus acoroides* adalah terdapatnya rambut-rambut kaku dan memiliki daun yang cenderung panjang dan lebar. Pada jenis *Thalassia hemprichii* daun lebih pendek dan terdapat garis-garis hitam (Gambar 1). Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* terletak pada lokasi lebih saling berdekatan dan berada pada daerah dengan substrat berlumpur.

Pengamatan karakteristik secara makroskopik (morfologi dan warna koloni) terhadap isolat bakteri endofit, masing-masing diperoleh hanya satu isolat dengan karakteristik yang berbeda pada setiap lokasi. Diketahui bahwa isolat bakteri epifit ditemukan lebih banyak dibandingkan dengan bakteri simbion endofit. Hal ini dapat dipengaruhi proses penempelan materi organik pada permukaan tumbuhan lamun yang selanjutnya menarik kehadiran bakteri untuk menempel karena ketersediaan makanan. Jika antara bakteri yang menempel dan tumbuhan lamun memiliki kecocokan, maka selanjutnya bakteri tersebut akan memproduksi eksopolisakarida (EPS) yang bertujuan untuk memperkuat penempelannya. Namun, bakteri tersebut bisa saja gagal menempel, jika tumbuhan lamun yang sebagai inangnya mengeluarkan metabolit sekunder yang dapat menghambat penempelan bakteri (Ramamoorthy, 2001). Proses penempelan bakteri epifit memiliki perbedaan dengan bakteri endofit, dimana penempelan bakteri endofit pada inangnya membutuhkan proses yang lebih spesifik. Beberapa kemungkinan terjadinya proses simbiosis tumbuhan dengan bakteri adalah bahwa bakteri kolonisasi terlebih dahulu berada pada permukaan tumbuhan inang dan selanjutnya terjadi proses masuknya bakteri endofit ke dalam jaringan inangnya melalui celah yang ada pada permukaannya atau bakteri endofit berada pada suatu tumbuhan karena terjadi perpindahan yang dilakukan oleh inang dari generasi ke generasi berikutnya pada saat reproduksi (Rosenblueth and Romero 2006). Berdasarkan hal tersebut terjadinya simbiosis bakteri endofit dengan tumbuhan inang yang lebih selektif karena bakteri yang dapat bersimbion secara endofit pada umumnya merupakan bakteri yang dapat terlibat dalam metabolisme bersama tumbuhan inangnya.

Isolasi bakteri endofit selain dapat dilakukan dengan cara mengekstraksi bagian tanaman tersebut, juga dapat langsung diisolasi dari tanaman jika organ tanaman tersebut telah dibersihkan permukaannya dari kontaminan. Jika mikroba atau kontaminan pada permukaan tumbuhan lamun mati, maka kemungkinan besar bakteri yang tumbuh saat inkubasi merupakan bakteri endofit (Barac *et al.*, 2004). Hasil uji aktivitas bakteri endofit terhadap bakteri uji memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri potensial berkisar antara 1-4 mm (Tabel 2). Sekalipun berdasarkan ukuran zona bening yang terbentuk masih tergolong kecil (lemah), namun kisaran nilai ini cukup menjanjikan. Diameter zona hambat tertinggi ditemukan terhadap bakteri target *E.coli* oleh isolat PT dengan ukuran diameter sebesar 4 mm. Dalam beberapa penelitian menjelaskan bahwa bakteri *E. coli* merupakan mikroorganisme terrestrial yang mampu beradaptasi terhadap perairan laut. Kemampuan penghambatan terhadap bakteri MRSA oleh kedua isolat diperoleh diameter zona hambat berkisar 1 mm hingga 1,5 mm yang tergolong lemah. Hasil tersebut menunjukkan bahwa potensi antibakteri yang diproduksi oleh bakteri endofit menghasilkan spektrum yang lebih sempit terhadap bakteri gram positif, dan menunjukkan spektrum yang luas terhadap bakteri gram negatif. Hal lain yang menunjukkan kurangnya penghambatan ini, kemungkinan dapat disebabkan oleh kehadiran bakteri simbion epifit pada tumbuhan lamun yang jumlahnya lebih banyak sehingga pertahanan diri tumbuhan lamun oleh bakteri simbion telah banyak dilakukan oleh bakteri simbion epifit yang berasosiasi di permukaan tubuh lamun, sehingga aktifitas penghambatan bakteri endofit menjadi berkurang (Lisdayanti, 2013).

Hasil penentuan ukuran DNA total dilakukan dengan membandingkan pita yang terbentuk pada sampel DNA total dan marker yang digunakan. penentuan diperoleh dari hubungan yang linier antara jarak migrasi DNA dan ukuran logaritmik dari bobot molekul DNA yang ada (Perceka, 2014). Adanya pita pada bagian awal proses migrasi menandakan bahwa DNA yang dihasilkan merupakan DNA total (Meryalita, 2012).

Pita DNA yang terlihat pada hasil elektroforesis setelah proses PCR, bobot molekulnya terlihat sejajar dengan pita DNA marker yaitu 1,500 bp. Hal ini tidak jauh berbeda terhadap hasil penelitian Nurlita (2012) yang menyatakan bahwa ukuran gen

16S rDNA sebesar 1423 bp. Sedangkan penelitian Lim *et al* (2012) menyatakan bahwa gen 16S rDNA pada hampir semua bakteri, umumnya berukuran sekita 1500 bp dengan susunan basa nitrogen yang berbeda satu sama lain. Susuna 16S rDNA merupakan urutan DNA pada subunit kecil ribosom bakteri. Susunan urutan ini digunakan untuk melakukan identifikasi isolat bakteri berdasarkan tingkat homologi sekuen DNA karena memiliki sifat spesifik pada organisme prokariot (Perceka, 2014).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh isolat bakteri dari kedua jenis tanaman lamun berbentuk basil (batang) dan bersifat gram positif (+). Kajian terhadap aktivitas antibakteri bakteri endofit tanaman lamun terhadap bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan bahwa bakteri endofit pada ekosistem lamun di penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri yang kecil terhadap bakteri uji umum.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Kemendikbudristek yang telah membantu dalam pendanaan penelitian ini hingga selesai. Ucapan terimakasih pula kepada Kepala Laboratorium Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya yang telah menyediakan bakteri strain Multidrug-resistant (MDR). Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada *reviewer* yang telah memberikan masukan untuk meningkatkan kualitas paper ini

Daftar Pustaka

- Azkab, M.H. 2006. What's with seagrass]. *Oseana*, 31: 45-55. (In Indonesian)
- Barac T., Taghavi S, Borremans B, Provoost A, Oeyen L, Colpaert J.V, Vangronsveld J, & Ledie V.D. 2004. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organicpollutants. *Nat Biotechnol*.22:583–588
- Cerceo, E., S.B. Deitelzweig, B.M. Sherman, & A.N. Amin. 2016. Multidrugresistant Gram-negative bacterial infections in the hospital Setting: overview, implications for clinical practice, and emerging treatment options. *Microb. Drug Resist*. 22:412–431
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 28th ed. Pennsylvania. USA
- Du, W. H. Chen, S. Xiao, W. Tang, & G. Shi. 2017. New insight on antimicrobial therapy adjustment strategies for Gram-negative bacterial infection. A cohort study. *Medicine* 96:e6439
- Ismet M. S., E. D Jayenti, P. Ismiati, R.P Utomo, E. S Srimariana, & Y. P Hastuti. 2020. Potential of associative bacteria isolates from seagrass ecosystem. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 429 (2020) 012030 doi:10.1088/1755-1315/429/1/012030
- Jirge S.S. & Chaudhari Y.S. 2010 Marine: The ultimate source of bioactives and drug metabolites. *Int J Res Ayur Pharm* 1: 55–62. doi: 10.4103/0974-7788.59946
- Kumar C.S., Sarada D.V.L, Gideon T.P. & Rengasamy R. 2008. Antibacterial activity of three South Indian seagrasses, *Cymodocea serrulata*, *Halophila ovalis* and *Zostera capensis*. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 1989–1992. doi:10.1007/s11274-008- 9695-5

- Lim JS, Choi BS, Choi AY, Kim KD, Kim DI, Choi IY, Ka JO. 2012. Complete genome sequence of the fenitrothion-degrading *Burkholderia* sp. Strain YI23. *J.Bacteriol.*194:896-896
- Lisdayanti E. 2013. Potensi antibakteri dari asosiasi lamun (seagrass) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar. skripsi. Makassar(ID): Universitas Hasanuddin.
- Lozano, C. & C. Torres. 2107. Update on antibiotic resistance in Gram positives. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 35:2–8.
- Meryalita R. 2012. Analisis Keragaman Genetik Kunyit (*Curcuma Longa* Linn) Dan Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Budidaya Tanah Jawa Berdasarkan Penanda Molekuler RAPD. Skripsi. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Nurlita AI. 2012. Identifikasi Aktinomiset Endofit Asal Tanaman Obat Berdasarkan 16s rDNA. Skripsi. Fakultas Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Perceka RM. 2014. Identifikasi Bakteri Endofit Isolat Biogen Cc-E76 Dengan Teknik PCR 16s rDNA. Skripsi. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Putra, G. I. 2019. Karakteristik Morfologi dan Status Padang Lamun. Program Studi Ilmu Kelautan. fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Udayana. Bali
- Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, Prakasam V, & Samiyappan R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plant against pests and diseases. *Crop Protection* 20 :1-11.
- Ravikumar S, Thajuddin N, Suganthi P, Inbaneson SJ, & Vinodkumar T. 2010. Bioactive potential of seagrass bacteria against human bacterial pathogens. *J Environ Biol* 31: 387-389
- Rolain, J., C. Abat, M. Jimeno, P. Fournier, & D. Raoult. 2016. Do we need new antibiotics? *Clin. Microbiol. Inf.* 22:408–415
- Rosenblueth, M. & Romero E.M. 2006. Bacterial endophytes and their interaction with hosts. *The American Phytopathological Society. MPMI* Vol. 19, No. 8, 2006, pp. 827–837. DOI: 10.1094/ MPMI -19-0827.
- Zhao K, Penttinen P, Guan T, Xiao J, Chen Q et al. 2011 The diversity and antimicrobial activity of endophytic actinomycetes isolated from medicinal plants in Panxi Plateau China. *Curr Microbiol* 62: 182–190. doi:10.1007/s00284-010-9685-3. PubMed: 20567975.