

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA AIR DAN SEDIMEN DI HABITAT
MANGROVE PANTAI CLUNGUP, KABUPATEN MALANG TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Vibrio alginolyticus***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN

JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

Oleh :

**LILIK ARTI WAHYUNI
NIM. 115080601111049**



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA AIR DAN SEDIMEN DI HABITAT
MANGROVE PANTAI CLUNGUP, KABUPATEN MALANG TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Vibrio alginolyticus***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

**Sebagai salah satu syarat untuk meraih Gelar Sarjana Kelautan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**LILIK ARTI WAHYUNI
NIM. 115080601111049**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA AIR DAN SEDIMEN DI HABITAT
MANGROVE PANTAI CLUNGUP, KABUPATEN MALANG TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Vibrio alginolyticus*

Oleh :

LILIK ARTI WAHYUNI

NIM. 115080601111049

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 03 Juli 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Ade Yamindago, S.Kel, MP)
NIP. 19840521 200801 1 002
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Syarifah Hikmah J.S, S.Pi, M.Sc)
NIP. 19840720 2014 04 2 002
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, PhD)
NIP. 19740812 200312 2 001
Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan PSPK

(Dr.Ir.Daduk Setyohadi, M.P)
NIP. 19630608 198703 1 003
Tanggal :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

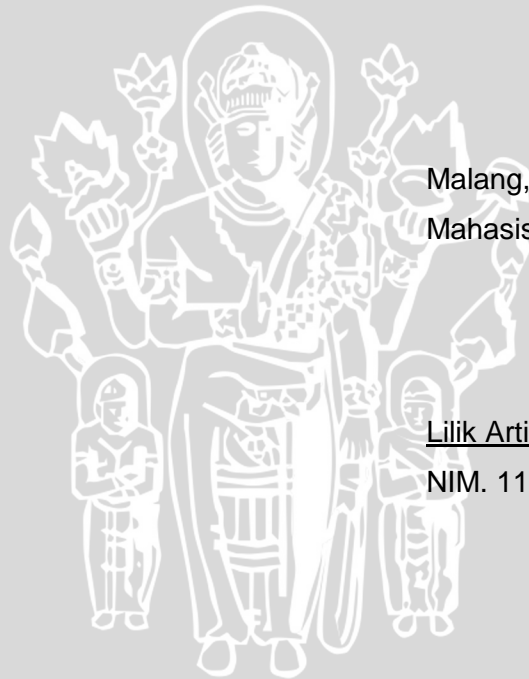


*Untuk
(Alm.) Om Pipin
di surga*

PERNYATAAN ORISINALITAS

Laporan skripsi yang telah tersusun ini, merupakan hasil karya saya sendiri. Beberapa literatur pendukung sebagai acuan pengerjaan skripsi yang saya cantumkan telah saya parafrase sedemikian rupa sehingga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, melainkan semua yang tertulis dalam laporan skripsi ini telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan orisinalitas yang saya buat ini dapat dipertanggung jawabkan. Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang,
Mahasiswa

Lilik Arti Wahyuni
NIM. 115080601111049

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian hingga penyusunan laporan skripsi ini tentu tidak terlepas dari campur tangan berbagai pihak. Untuk itu, perkenankan penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan hadiah paling menakjubkan di Dunia berupa imajinasi yang tak terbatas
2. Rasulullah SAW, manusia paling mulia di muka bumi ini yang telah membawa kami para umatnya menuju jalan kebenaran melalui ajaran Agama Islamnya
3. Dua Manusia Keren di Dunia, Joko Wahyudi dan Ngatminah yang selalu memperjuangkan kebahagiaan kami anak-anaknya
4. Adik Chykal Prayudi yang telah memainkan berbagai peran dan menjadi motivasi tersendiri selama hidup penulis
5. Presiden RI ke-6, Bapak Susilo Bambang Yudhoyono yang telah memberikan kesempatan bagi penulis merasakan bangku kuliah melalui program beasiswa super sakralnya, yaitu Beasiswa Bidik Misi
6. Bapak Ade Yamindago, S.Kel, MP selaku dosen pembimbing I yang tanpa bosan menghadapi berbagai keluh kesah penulis
7. Ibu Feni Iranawati, S.Pi, M.Sc, PhD selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar mengarahkan alur penulisan laporan skripsi ini
8. Bapak Dr.Ir. M. Firdaus, MP dan Ibu Syarifah Hikmah J.S, S.Pi, M.Sc selaku dosen penguji I dan II yang telah memberikan arahan dan masukan demi sempurnanya laporan skripsi ini
9. Teman-teman Tim Penelitian, Muhammad Yusufi Ananta C N, Maria Deswita Br Turnip dan Eri Sahabudin serta teman-teman yang tergabung dalam *Papi Ade's Childern* yang selalu meluangkan waktunya untuk berdiskusi dan berbagi pengalaman
10. Laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboran Laboratorium Kemanana Hasil Perikanan dan Laboran Laboratorium Ilmu Kelautan
11. Teman-teman Magelhaens 2011 dan teman-teman Ilmu Kelautan seluruh angkatan
12. Keluarga Sumar (Puspita Fajar Kharismaningtyas, Eny Tazkiyah Rohmawati, Yeti Nurdiana, Siti Pramudya Wardani dan Kanty Noviya Sari) yang selalu meladeni seluruh tingkah polah penulis yang jauh dari kata normal

13. Teman-teman Kavling 10 yang sudi menerima dan mengizinkan penulis untuk sama-sama berproses selama ini
14. Teman-teman alumni SMAN 1 Kedungpring yang tergabung dalam 'IAS Malang' yang selalu membantu apapun dan kapanpun penulis butuhkan saat berada di Malang
15. Para sahabat, Nur Hidayati Dehani Dwi Linggayani, Lenny Risty Wilujeng dan Dewi Agustin Dyah Mahardika yang sejak lama memberikan warna dalam hidup penulis
16. Pakdhe, Budhe, Om, Tante, Mbak, Mas dan seluruh sanak keluarga di Cilacap, Lamongan dan Jakarta
17. Seluruh benda mati yang sengaja penulis personifikasikan, Burung kertas, Bintang-bintang, Senja, NASA, Beki, Pipi, Red, Choco, Tere dan semua obyek imajiner yang tak pernah protes atas semua kalimat yang keluar dari mulut penulis
18. Lirik lagu Om Iwan Fals yang tak pernah menyurutkan semangat bagi siapapun yang mendengarkannya
19. Semua pihak yang turut campur tangan dalam penyusunan laporan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu
20. Dan seseorang jauh di dalam sana yang namanya tersusun atas 'Empat huruf dengan unsur A yang kuat di dalamnya' yang telah mengajarkan berbagai macam hal kepada penulis.

Malang, 30 Juni 2015

Penulis

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, Laporan Skripsi dengan Judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA AIR DAN SEDIMEN DI HABITAT MANGROVE PANTAI CLUNGUP, KABUPATEN MALANG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Vibrio alginolyticus***” ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Laporan Skripsi ini disusun sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Kelautan dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Laporan Skripsi ini diharapkan dapat dijadikan pegangan belajar mengenai dunia pendidikan, sekaligus menambah pengetahuan bagi pembaca terutama untuk mempelajari tentang karakterisasi koloni dan sel bakteri pada dengan air dan sedimen serta aktivitas antibakterinya terhadap patogen. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan dan disempurnakan oleh peneliti lain.

Penulis menyadari bahwa Laporan Skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan Laporan Skripsi ini dan melaksanakan perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan bagi dunia pendidikan serta ilmu pengetahuan.

Malang, 07 Juli 2015

Penulis

RINGKASAN

LILIK. Skripsi tentang Uji Aktivitas Antibakteri pada Air dan Sedimen di Habitat Mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* (dibawah bimbingan **Ade Yamindago, S.Kel, MP** dan **Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, PhD**).

Skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri pada Air dan Sedimen di Habitat Mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*” dilakukan pada periode bulan Maret-Mei 2015. Pengambilan sampel dilakukan di habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang sedangkan identifikasi morfologi koloni dan sel dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari penelitian skripsi ini adalah untuk mengelompokkan bakteri pada air dan sedimen berdasarkan morfologi koloni dan sel, mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* serta mengetahui sifat antibakterinya.

Metode penelitian yang dilakukan adalah metode *eksperimental laboratory* dengan data disajikan secara deskriptif yang bertujuan memberikan gambaran yang terjadi menggunakan prosedur ilmiah diantaranya proses pengambilan sampel air dan sedimen, pembuatan media, isolasi bakteri, screening bakteri kandidat, pembuatan stok bakteri patogen, uji aktivitas antibakteri, pemurnian bakteri dan pengamatan morfologi koloni dan sel bakteri air dan sedimen.

Hasil aktivitas antibakteri pada air dan sedimen (ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* masih tergolong lemah, karena diameter zona bening yang terbentuk <5 mm. Isolat 1A₅, 1S₅, 2S₂ dan 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* secara berurutan membentuk zona bening sebesar 2,32 mm ; 1,05 mm ; 1,72 mm ; 2,50 mm. Isolat 1A₅, 1S₅, 2S₅ dan 3A₅ terhadap *Vibrio alginolyticus* secara berurutan membentuk zona bening dengan diameter 0,52 mm ; 3,08 mm ; 0,50 mm ; 1,98 mm.

Zona bening terbesar diperoleh dari isolat 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 2,50 mm sedangkan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* yaitu isolat dengan kode 1S₅ sebesar 3,08 mm. Kedua isolat ini mempunyai sifat bakteriosidal (membunuh) patogen, namun masih dalam golongan yang lemah.

Bentuk morfologi koloni isolat bakteri air dan sedimen didapatkan bentuk koloni bulat, tepi utuh, elevasi dominan adalah rata dan warna putih susu. Bentuk sel isolat bakteri yang didapatkan adalah kokus. Bakteri air dan sedimen yang ditemukan termasuk ke dalam golongan bakteri gram positif (+)

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Manfaat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Bakteri.....	5
2.2. Air.....	13
2.3. Sedimen.....	15
2.4. Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya dan Manusia.....	16
2.5. Uji Antibakteri.....	18
2.6. Sifat Antibakteri.....	19



3. METODE PENELITIAN	21
3.1. Waktu dan Tempat	21
3.2. Alat dan Bahan	22
3.3. Metode Penelitian	24
3.4. Prosedur Penelitian	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1. Kondisi Lingkungan Habitat Mangrove Pantai Clungup	34
4.2. Isolasi Bakteri Air dan Sedimen	35
4.3. Uji Aktivitas Antibakteri	37
4.4. Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen	42
4.5. Sifat Antibakteri	45
4.6. Morfologi Koloni dan Sel Bakteri	46
5. PENUTUP	49
5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	55



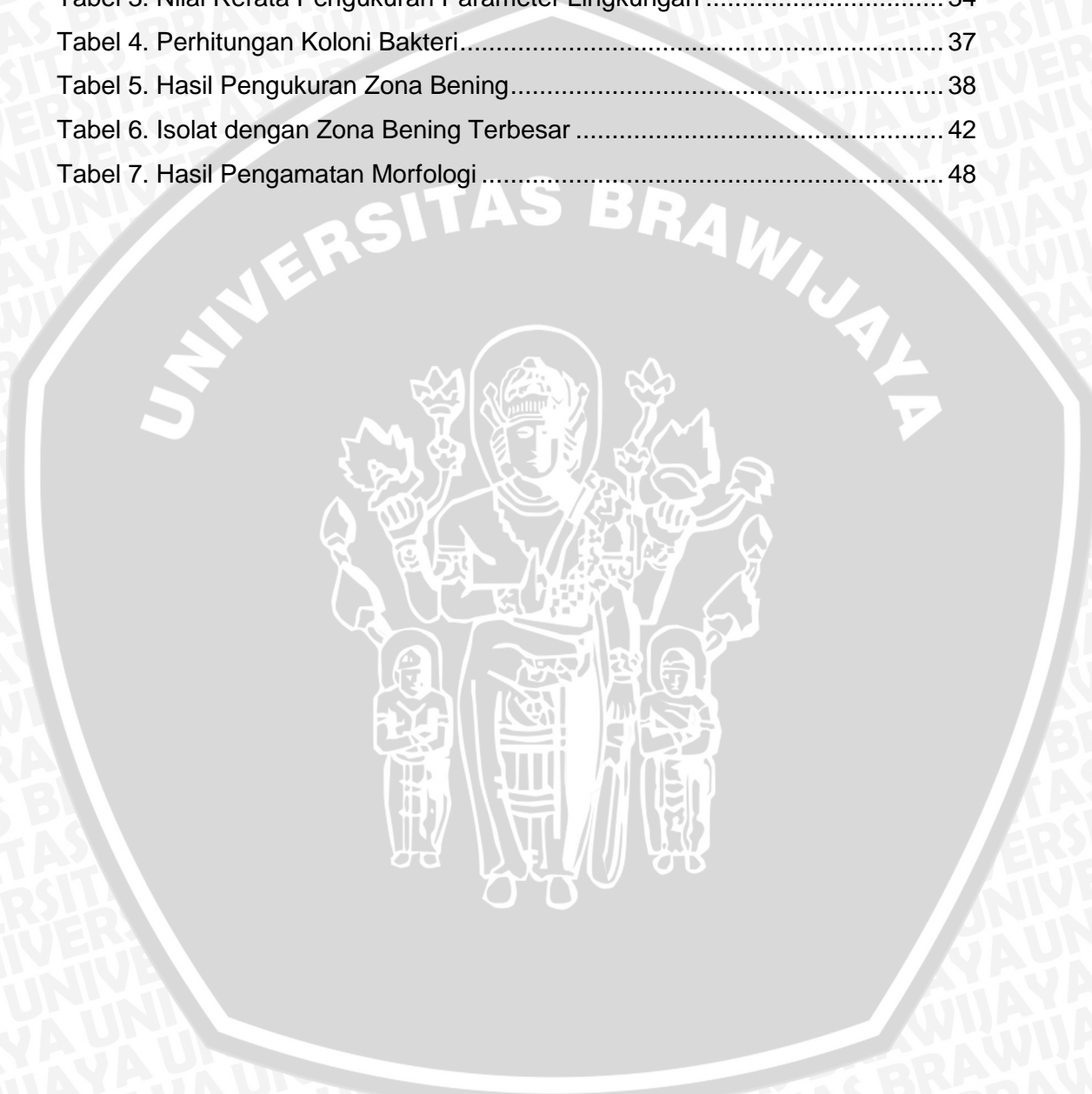
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Sel Bakteri	6
Gambar 2. Bentuk Koloni Bakteri.....	10
Gambar 3. Macam-macam Bentuk Bakteri	11
Gambar 4. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Gambar 5. <i>Vibrio alginolyticus</i>	18
Gambar 6. Lokasi Pengambilan Sampel.....	21
Gambar 7. Diagram Alur Penelitian	26
Gambar 8. Proses Pengenceran.....	30
Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri.....	32
Gambar 10. Hasil Penanaman Sampel a). Air b). Sedimen	36
Gambar 11. Pengukuran Zona Bening Isolat a).1A ₅ dan b).1S ₅	39
Gambar 12. Pengukuran Zona Bening Isolat a).2S ₂ dan b).2S ₅	40
Gambar 13. Pengukuran Zona Bening Isolat a).3A ₅ dan b).3S ₄	41
Gambar 14. Grafik Perbedaan Aktivitas Antibakteri pada Air dan Sedimen terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio alginolyticus</i>	43
Gambar 15. Perbedaan Bakteriosidal dan Bakteriostatik	45
Gambar 16. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni pada a).1A ₅ dan b).1S ₅	47
Gambar 17. Hasil Pewarnaan Gram Pada Isolat a). 1S ₅ dan b). 3S ₄	48



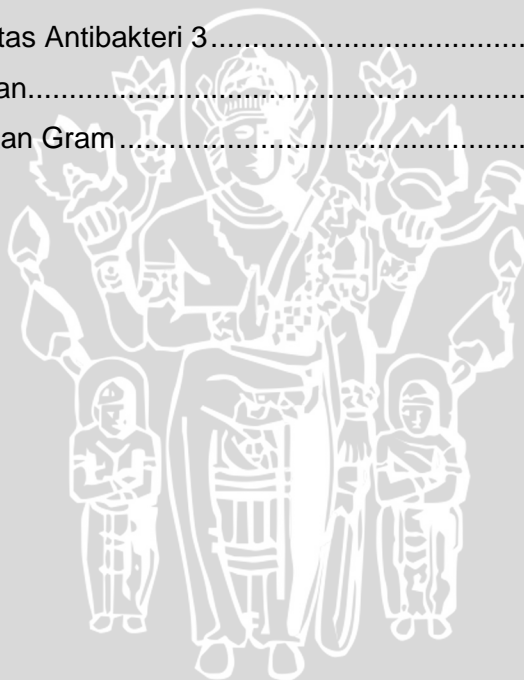
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Alat, Spesifikasi dan Fungsinya	22
Tabel 2. Bahan, Spesifikasi dan Fungsinya	23
Tabel 3. Nilai Rerata Pengukuran Parameter Lingkungan	34
Tabel 4. Perhitungan Koloni Bakteri.....	37
Tabel 5. Hasil Pengukuran Zona Bening.....	38
Tabel 6. Isolat dengan Zona Bening Terbesar	42
Tabel 7. Hasil Pengamatan Morfologi	48



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pengambilan Sampel Lapang	55
Lampiran 2. Persiapan Alat dan Bahan dan Sterilisasi.....	55
Lampiran 3. Pengenceran Bertingkat.....	56
Lampiran 4. Penanaman Sampel.....	56
Lampiran 5. Hasil Penanaman 1	56
Lampiran 6. Hasil Penanaman 2.....	57
Lampiran 7. Hasil Penanaman 3.....	57
Lampiran 8. Pembuatan Stok Bakteri Patogen dan Bakteri Kandidat.....	57
Lampiran 9. Uji Aktivitas Antibakteri 1	58
Lampiran 10. Uji Aktivitas Antibakteri 2.....	58
Lampiran 11. Uji Aktivitas Antibakteri 3.....	58
Lampiran 12. Pemurnian.....	59
Lampiran 13. Pewarnaan Gram.....	59



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroorganisme memiliki kemampuan dalam bertahan hidup karena dukungan faktor biotik dan faktor abiotik. Di perairan, bakteri memiliki rentang kemampuan hidup sangat luas. Setiap perubahan parameter di lautan diduga berpengaruh terhadap bakteri, terutama dalam jumlah karena berkaitan dengan kemampuan adaptasinya. Bakteri tertentu yang ditemukan di lautan dapat dijadikan indikator lingkungan, sehingga dapat dijadikan informasi awal untuk memberikan justifikasi kondisi lingkungan perairan. Bakteri dapat ditemukan pada lokasi dan obyek yang luas di perairan laut, salah satunya adalah pada substrat permukaan dasar perairan (Wahyuni, 2012).

Air dan sedimen merupakan materi yang sangat menentukan di dalam kehidupan dan lingkungan. Di dalam air dan sedimen terkandung suatu kehidupan yang mempunyai bentuk dan sifat berbeda dengan kehidupan di tempat lain, khususnya untuk kehidupan dari sekelompok jasad hidup yang termasuk mikroba (jasad renik, mikroorganisme) seperti bakteri, fungi, mikroalga. Gross (1990) mendefinisikan sedimen laut sebagai akumulasi mineral-mineral dan pecahan-pecahan batuan yang bercampur dengan hancuran cangkang dan tulang dari organisme laut serta beberapa partikel lain yang terbentuk lewat proses kimia yang terjadi di laut. Adanya bahan-bahan tersebut, terutama bahan organik, akan menyokong kehidupan mikroba pada sedimen.

Kondisi habitat mangrove pada umumnya merupakan lingkungan yang kaya bahan organik dan merupakan habitat yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa literatur juga mendukung bahwa kawasan mangrove sangat potensial untuk isolasi mikroba. Pada habitat mangrove, ditemukan berbagai macam bakteri, seperti bakteri selulolitik, bakteri heterotrofik dan bakteri

hidrokarbonoklastik. Partikel-partikel organik atau serasah menjadi tempat hidup bagi bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya. Serasah mangrove yang tertimbun di lumpur mengalami dekomposisi oleh berbagai jasad renik (mikroba) untuk menghasilkan detritus dan mineral bagi kesuburan tanah serta sumber bagi kehidupan fitoplankton (Uno *et al.*, 2012). Kehadiran jasad renik tersebut di dalam air dan sedimen banyak mendatangkan keuntungan, tetapi banyak juga yang merugikan (Suriawiria, 2003).

Beberapa bakteri telah terdeteksi dalam air laut dan deposit bawah laut. Bakteri diyakini memainkan peran penting dalam perekonomian laut, di mana mereka berfungsi sebagai biokimia, geologi, dan agen hidrogeologi. Meskipun sebagian besar menguntungkan, bakteri tertentu bersifat patogen bagi tumbuhan laut dan hewan, beberapa penyebab pembusukan ikan atau produk makanan laut lainnya, lainnya berkontribusi terhadap korosi atau biofouling struktur buatan manusia (Salle, 1943).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi pada organ atau luka pada organ tubuh manusia maupun hewan (Melki *et al.*, 2010). Bakteri ini juga penyebab penyakit pada rongga mulut seperti abses, gingivitis, angular cheilitis (Smith *et al.*, 2011), menyebabkan intoksikasi dan infeksi seperti bisul, pneumonia, mastitis pada manusia dan hewan dan memproduksi enterotoksin penyebab keracunan yang bersifat tahan panas dan masih aktif setelah dipanasi pada suhu 100°C selama 30 menit (Fardiaz, 1989). Selain *Staphylococcus aureus* bakteri yang umum didapatkan di lingkungan laut yang bersifat patogen adalah *Vibrio alginolyticus*. Bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah penyebab penyakit vibriosis yang meyerang udang dan ikan terutama ikan kerapu (Austin, 1988 dalam Rinawati, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Baskar dan Kannan (2009) menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dari air dan sedimen mampu menghambat

pertumbuhan bakteri patogen. Sama halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Rao *et al.* (2012), bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari area mangrove (dalam hal ini adalah air dan sedimen) mampu menghambat bakteri patogen. Berdasarkan kedua penelitian tersebut, dimungkinkan bakteri yang berada pada air dan sedimen di Pantai Clungup juga dapat digunakan untuk menghambat bakteri patogen. Mengingat kondisi Pantai Clungup yang masih sangat alami dan belum ada campur tangan manusia. Selain itu, belum tersedianya data keanekaragaman bakteri yang hidup di air dan sedimen di Pantai Clungup juga mendorong untuk dilakukannya penelitian ini.

1.2. Rumusan Masalah

Habitat mangrove merupakan kawasan yang sangat potensial untuk isolasi mikroba, karena kawasan tersebut kaya akan bahan organik yang mendukung pertumbuhan mikroba. Pencarian bahan hayati laut sebagai informasi awal untuk mengetahui potensi yang dimiliki di habitat mangrove Pantai Clungup masih jarang dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, maka ada tiga pokok permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut :

- 1) Bagaimana morfologi koloni dan sel bakteri air dan sedimen yang berasal dari habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang ?
- 2) Apakah bakteri yang terdapat pada air dan sedimen memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* ?
- 3) Bagaimana sifat antibakteri pada air dan sedimen dari habitat mangrove Pantai Clungup dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* ?

1.3. Tujuan

Tujuan dari Penelitian Skripsi ini adalah sebagai berikut :

- 1) Mengkarakterisasi koloni dan sel bakteri yang terdapat pada air dan sedimen dari habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang
- 2) Mengidentifikasi potensi aktivitas antibakteri pada air dan sedimen yang diperoleh dari habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang
- 3) Mengidentifikasi sifat antibakteri pada air dan sedimen dari habitat mangrove Pantai Clungup dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*

1.4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut :

- 1) Pengetahuan tentang kelompok-kelompok bakteri yang diisolasi dari air dan sedimen di habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang
- 2) Aktivitas antibakteri pada air dan sedimen yang diperoleh dari Pantai Clungup, Kabupaten Malang
- 3) Pengetahuan tentang bahan hayati laut sebagai bahan baku produk farmasi

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri

Bakteri merupakan mikroba uniseluler. Pada umumnya bakteri tidak mempunyai klorofil. Ada beberapa yang fotosintetik dan reproduksi aseksualnya secara pembelahan. Bakteri tersebar luas di alam, di dalam tanah, di atmosfer, di sumber air panas, di daerah antartika, dalam tubuh hewan, manusia dan tanaman. Jumlah bakteri tergantung keadaan sekitar. Misalnya jumlah bakteri dalam tanah tergantung jenis tingkat kesuburan tanah (Hidayat *et al.*, 2006).

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya khas, berbentuk bola, batang atau spiral. Bakteri rata-rata berdiameter 1,5 sampai 2,5 μm . Cara reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana, yaitu suatu proses reproduksi aseksual (Waluyo, 2005).

Bakteri adalah makhluk haploid, kromosomnya tidak memanjang seperti potongan-potongan benang, tetapi melingkar dan tak berujung pangkal. Bakteri tidak memiliki nukleus, RE (retikulum endoplasma), mitokondria dan badan golgi. Pada bakteri gram positif, terdapat lipatan-lipatan plasmolema yang disebut dengan mesosom yang diduga dapat berperan sebagai mitokondria (Dwidjoseputro, 2005).

2.1.1. Susunan Sel

Menurut Radji (2011), berdasarkan struktur selnya, bakteri termasuk ke dalam golongan prokariot. Sel prokariot memiliki struktur sel lebih sederhana dibandingkan dengan sel eukariot. Struktur sel bakteri terdiri atas tiga bagian penting, yaitu susunan eksternal sel, struktur dinding sel dan struktur internal sel.



Gambar 1. Struktur Sel Bakteri (Radji, 2011)

1) Struktur eskternal sel

Pada struktur eskternal sel, bagian-bagian penting di permukaan sel adalah glikokaliks, flagel, fimbria dan pili (Radji, 2011).

- Glikokaliks

Glikokaliks adalah selubung gula yang merupakan istilah umum untuk suatu zat yang dapat menyelimuti permukaan sel. Glikokaliks pada bakteri umumnya mengandung polisakarida dan polipeptida yang biasanya dibuat di bagian internal (bagian dalam) sel dan disekresikan ke permukaan sel. Glikokaliks juga disebut dengan kapsul keberadaannya dalam menyelimuti dinding sel bakteri menempel dengan kuat. Keberadaan kapsul dapat diketahui dengan pewarnaan negatif terhadap kapsul bakteri (Hidayat *et al.*, 2006).

- Flagel

Beberapa jenis bakteri mempunyai flagel sehingga bakteri dapat bergerak dengan bebas dan berenang dalam cairan habitatnya. Flagel adalah bagian bakteri yang berbentuk seperti benang dengan diameter 12-30 nm dan pada umumnya mengandung protein yang disebut dengan flagelin. Berdasarkan pola keberadaan flagel pada tubuh sel bakteri, flagel dibagi dalam empat jenis, yaitu monotrik :

flagel tunggal berada pada bagian ujung sel bakteri, amfitrik : satu atau lebih flagel berada di kedua bagian polar sel bakteri, lofotrik : lebih dari satu flagel berada di satu bagian polar sel bakteri, peritrik : flagel tersebar di sekeliling tubuh sel bakteri (Lehninger, 1997).

- Fimbria dan Pili

Beberapa bakteri mempunyai organ tambahan berbentuk benang yang lebih pendek, lebih lurus, dan lebih kecil dari flagel yang berfungsi sebagai alat untuk menempel dan tetapi tidak untuk bergerak, yaitu pili. Organ ini mengandung protein yang disebut pilin. Pili berperan dalam proses konjugasi sel dalam pemindahan materi genetik (DNA) antara satu sel bakteri dengan sel bakteri lain sehingga terkadang disebut juga pili seks (Waluyo, 2005).

Fimbria terdapat di seluruh permukaan sel bakteri. Organ ini berperan dalam adhesi bakteri dengan sel hospes. Sebagai contoh, fimbria yang terdapat pada sel *Neisseria gonorrhoeae* berperan penting dalam proses kolonisasi bakteri pada membran mukosa (Lehninger, 1997).

2) Struktur dinding sel

Dinding sel bakteri mempunyai struktur yang sangat kompleks yang terdiri atas komponen yang kaku dan kuat serta berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan keutuhan sel. Dinding sel harus mampu mempertahankan sel ketika tekanan osmotik di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel. Dinding sel relatif kuat dan lentur sehingga dapat menahan tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel bakteri (Irianto, 2006).

3) Struktur internal sel

Struktur internal sel terdiri atas membran sitoplasma, sitoplasma, area nukleus, ribosom, mesosom dan inklusi (Radji, 2011).

- Membran sitoplasma

Membran sitoplasma merupakan lapisan tipis yang berada tepat di dalam dinding sel yang melapisi sitoplasma sel. Fungsi penting membran sitoplasma adalah sebagai penyaring selektif keluar masuknya senyawa kimia dari luar dan dari dalam sel. Selain mengandung beberapa enzim yang dapat mencerna nutrisi dan menghasilkan energi ATP, membran ini juga berfungsi untuk menjamin pemisahan materi genetik (DNA) ke sel anakan pada saat terjadi pembelahan sel (Dwidjoseputro, 2005).

- Sitoplasma

Sitoplasma merupakan substansi yang berada di dalam plasma dan mengandung 80% air. Selain itu, sitoplasma mengandung protein, enzim, karbohidrat, lipid, ion-ion anorganik dan berbagai senyawa berbobot molekul rendah. Struktur utama sitoplasma prokariot terdiri atas area nukleus yang mengandung DNA, ribosom, berbagai inklusi dan granul (Pelczar dan Chan, 2005).

- Area nukleus

Area nukleus atau nukleus sel bakteri mengandung DNA untai ganda berbentuk melingkar yang disebut dengan kromosom bakteri. Berbeda dari kromosom sel eukariot, kromosom bakteri tidak dikelilingi oleh membran inti sel dan tidak mengandung protein histon. Selain kromosom, bakteri sering kali mengandung molekul DNA untai ganda berbentuk melingkar dan berukuran kecil yang disebut dengan plasmid. Plasmid merupakan elemen materi genetik ekstrakromosomal yang tidak berhubungan dengan kromosom bakteri (Purnomo, 2008).

Plasmid dapat bereplikasi secara otonom dan tidak bergantung pada kromosom bakteri. Plasmid biasanya mengandung sekitar 5 – 100 gen yang tidak begitu berperan pada ketahanan hidup sel dalam lingkungan tertentu. Namun, plasmid terkadang juga bermanfaat untuk kehidupan sel bakteri. Plasmid dapat membawa gen yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik, gen yang memberikan ketahanan terhadap sifat toksik logam berat tertentu, gen yang menghasilkan toksin atau gen yang menyintesis berbagai jenis enzim. Plasmid dapat berpindah dari sel bakteri yang satu ke sel bakteri yang lain (Radji, 2011).

- Ribosom

Semua sel baik prokariot maupun eukariot memiliki ribosom yang berfungsi penting untuk sintesis protein. Pengamatan dengan mikroskop elektron menunjukkan bahwa sitoplasma dipenuhi oleh ribosom sehingga sitoplasma tampak bergranul. Ribosom pada prokariot berbeda dengan ribosom pada eukariot, ribosom prokariot lebih kecil dibandingkan dengan ribosom eukariot (Waluyo, 2005).

- Mesosom

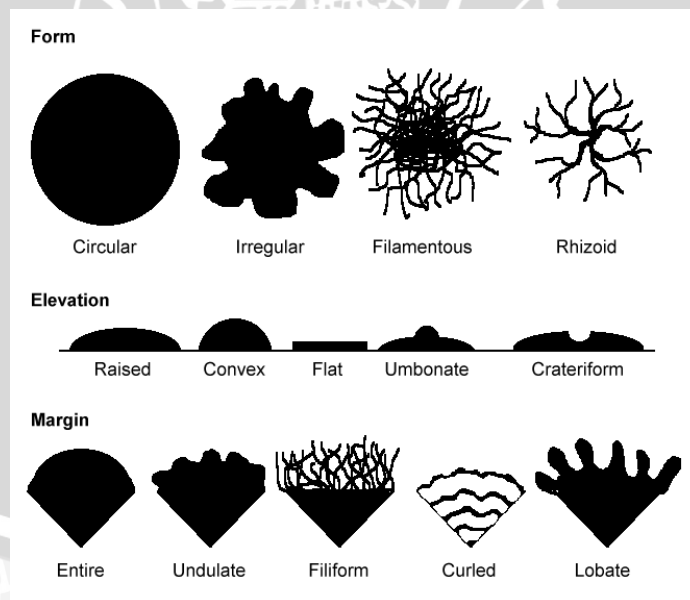
Pada beberapa tempat di membran plasma, terdapat lekukan ke dalam yang relatif besar dan biasa disebut dengan mesosom. Lekukan membran plasma ini dapat memperluas permukaan membran dan berfungsi sebagai tempat kerja enzim yang terlibat dalam respirasi transport elektron. Mesosom yang merupakan tempat menempelnya kromosom bakteri juga berfungsi dalam proses pembelahan sel (Radji, 2011).

- Inklusi

Saat di dalam sitoplasma sel prokariot, terdapat granula-granula yang mengandung berbagai substansi, seperti glikogen, metafosfat anorganik, asam polihidroksibutirat, belerang atau senyawa yang mengandung nitrogen, yang biasanya digunakan sebagai cadangan nutrisi bagi sel. Substansi cadangan tersebut dikenal dengan inklusi. Tidak semua spesies bakteri memiliki inklusi tertentu, oleh karena itu, jenis inklusi sering kali digunakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri (Dwidjoseputro, 2005).

2.1.2. Bentuk

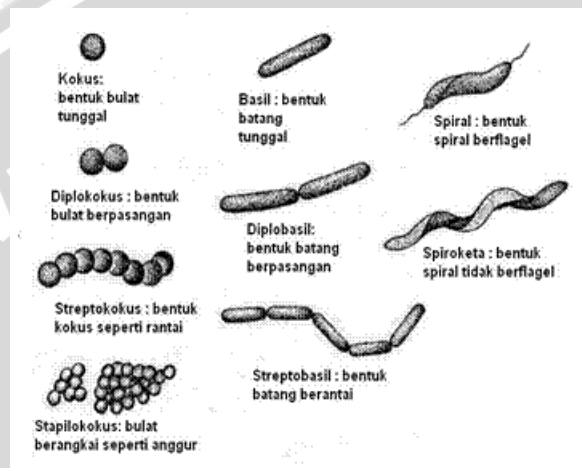
Menurut Lisdayanti (2013), bentuk koloni dari bakteri yaitu bulat, titik, tidak teratur, akar dan berserabut, dan muralid. Bentuk dari elevasi koloni yaitu datar, membukit, cembung dan cekung. Bentuk dari tepi koloni yaitu berbelah, utuh, bergerigi, dan berombak (Gambar 2).



Gambar 2. Bentuk Koloni Bakteri (Lisdayanti, 2013)

Menurut Hidayat *et al.* (2006), bakteri umumnya berukuran kecil dengan karakteristik dimensi sekitar 1 μm . Bentuknya dapat bulat atau cocci,

batang atau bacilli (Gambar 3). Sel dapat tunggal maupun rangkaian. Beberapa kelompok memiliki flagella dan dapat bergerak aktif. Bakteri memiliki berat jenis 1,05 – 1,1 g.cm⁻³ dan berat sekitar 10⁻¹² g sebagai partikel kering. Ukurannya aktual tergantung dari laju pertumbuhan, media tumbuh dan sebagainya. Ada tiga bentuk dasar bakteri, yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau silindris dan bentuk lengkung atau vibri.



Gambar 3. Macam-macam Bentuk Bakteri (Hidayat *et al.*, 2006)

Menurut Purnobasuki (2011), bentuk sel bakteri terdiri atas bentuk bulat, bentuk batang dan bentuk lengkung. Berikut merupakan uraiannya :

1) Bentuk bulat

Sebenarnya tidak ada bakteri yang betul-betul bulat, tetapi spheroid.

Bentuk bulat atau kokus dapat dibedakan lagi dalam :

- Mikrokokus, adalah bakteri dengan bentuk bulat satu-satu
- Diplokokus, sel bakteri berbentuk bulat bergandengan dua-dua
- Streptokokus, bulat bergandengan seperti rantai sehingga hasil pembelahan sel ke satu atau dua arah dalam satu garis
- Tetrakokus, bulat terdiri dari empat sel yang tersusun dalam bentuk bujur sangkar sebagai hasil pembelahan sel ke dua arah



- Sarsina, bulat terdiri dari delapan sel yang tersusun dalam bentuk kubus sebagai hasil pembelahan sel ke tiga arah
 - Stafilokokus, bulat tersusun sebagai kelompok buah anggur sebagai hasil pembelahan ke segala arah
- 2) Bentuk batang
- Diplobasilus, bentuk batang dapat terdiri dari sel tunggal yang bergandengan dua-dua
 - Streptobasilus, bentuk sel batang seperti rantai
- 3) Bentuk lengkung
- Vibrio, apabila lengkungnya kurang dari setengah lingkaran
 - Spirochaeta, apabila spiralnya halus dan lentur
 - Spirillum, apabila spiralnya tebal dan kaku

2.1.3. Fase Pertumbuhan

Istilah pertumbuhan bakteri umumnya mengacu pada pertumbuhan kelompok bakteri daripada sel tunggal. Bakteri paling banyak ditemukan berkembang biak dengan fisi, yaitu proses dimana satu sel membelah untuk menghasilkan dua sel baru dan seterusnya. Proses fisi dapat berlangsung dimana saja mulai dari 15 menit sampai 16 jam, tergantung pada jenis bakteri (Irianto, 2006).

Sejumlah faktor yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan bakteri yang paling utama adalah kelembaban, suhu dan pH. Sebagian besar tubuh bakteri terdiri dari air, jika terlalu banyak air masuk atau keluar dari sel bakteri, maka sel akan mati. Jika sel bakteri ditempatkan dalam larutan yang sangat pekat air garam, air mulai melewati keluar dari sel dan ke dalam air garam. Sel mulai menyusut dan tidak mampu melakukan fungsi kehidupan normal. Hal ini menyebabkan bakteri tidak dapat tumbuh dan pada akhirnya

akan mati. Di sisi lain, kelebihan air bisa berbahaya bagi bakteri. Jika air mengalir ke dalam sel bakteri, sel mulai membengkak dan akhirnya bisa meledak dan mengakibatkan kematian sel. Faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH, keasaman suatu larutan. Kebanyakan bakteri memerlukan pH 6,7 – 7,5. Bakteri dapat bertahan hidup pada pH yang lebih asam (Hikmat, 2015).

Menurut Dwidjoseputro (2005), fase pertumbuhan bakteri antara lain :

- 1). Fase adaptasi, pada waktu 1 sampai 2 jam di lingkungan baru bakteri akan mula membelah diri,
- 2). Fase permulaan pembiakan, pada fase ini jumlah bakteri akan bertambah sedikit demi sedikit dan sel-sel dari individu bakteri akan terlihat semakin membesar,
- 3). Fase pembiakan cepat (logaritmik), pada fase ini pembiakan bakteri terjadi sangat cepat,
- 4). Fase pembiakan diperlambat, jumlah sel-sel segar akan mulai menyusut pada fase ini,
- 5). Fase konstan, jumlah bakteri yang hidup sama dengan jumlah bakteri yang mati,
- 6). Fase kematian, jumlah bakteri yang mati akan semakin banyak pada fase ini hingga melebihi jumlah bakteri yang membelah,
- 7). Fase kematian dipercepat, hampir sebagian besar bakteri ada suatu koloni telah mati pada fase ini.

2.2. Air

Air merupakan materi yang sangat menentukan di dalam kehidupan dan lingkungan, tetapi di dalam air terkandung suatu kehidupan yang mempunyai bentuk dan sifat berbeda dengan kehidupan di tempat lain. Khususnya untuk kehidupan dari sekelompok jasad hidup yang termasuk mikroba (jasad renik, mikroorganisme) seperti bakteri, fungi, mikroalga. Kehadiran jasad tersebut di dalam air banyak mendatangkan kerugian, tetapi juga banyak mendatangkan keuntungan dan manfaat (Suriawiria, 2003).

Air merupakan unsur yang mempunyai peran utama dalam kehidupan di bumi ini. Air dikenal sebagai sumber daya yang terbarukan, namun dari segi kualitas maupun kuantitas membutuhkan upaya dan waktu untuk berlangsung baik. Kriteria dan standar kualitas air didasarkan atas beberapa hal, antara lain keberadaan logam dan logam berat, anorganik, tingkat toksisitas dan teremisinya pencemar ke lingkungan. Air adalah pelarut yang baik, oleh sebab itu di dalamnya paling tidak terlarut sejumlah kecil zat-zat anorganik dan organik. Dengan kata lain, tidak ada air yang benar-benar murni dan hal ini menyebabkan dalam setiap analisis air ditemukan zat-zat terlarut (Sidharta, 2000).

2.2.1. Bakteri Air Laut

Bakteri ditemukan di air sebagaimana mikroorganisme lainnya. Kebanyakan bakteri akuatik adalah heterotrofik, yakni hidup dengan menggunakan zat organik. Secara morfologis, bakteri akuatik mempunyai bentuk yang hampir sama dengan tipe bentuk dasar bakteri yang terdapat di darat. Organisme yang berbentuk filamen dan bentuk pita dengan tangkai dapat juga ditemukan dalam lingkungan akuatik. Kebanyakan bakteri akuatik adalah motil dengan flagela. Bakteri akuatik secara sistematis tidak digolongkan dalam satu grup yang homogen (Waluyo, 2009).

Pada lingkungan perairan laut, mikroorganisme terdapat di seluruh bagian laut dari permukaan air laut sampai dasar relung yang terdalam. Bakteri yang hidup di perairan laut umumnya uniseluler, tidak memiliki klorofil, berkembang biak dengan pembelahan sel secara transversal atau biner, sebagian besar berbentuk batang, gram negatif dan bergerak secara aktif. Secara umum hidupnya saprofitik pada sisa buangan hewan atau tanaman yang sudah mati, ada juga yang bersifat parasitik pada hewan, manusia dan tanaman yang dapat menyebabkan penyakit. Contoh bakteri

yang banyak dijumpai di laut adalah *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* dan *Bacterium* (Sidharta, 2000).

2.3. Sedimen

Sedimen adalah material atau pecahan dari batuan, mineral dan material organik yang melayang-layang di dalam air, udara, maupun yang dikumpulkan di dasar sungai atau laut oleh pembawa atau perantara alami lainnya. Sedimen pantai dapat berasal dari erosi pantai, dari daratan yang terbawa oleh sungai, dan dari laut dalam yang terbawa oleh arus ke daerah pantai (Jumiarni, 2007). Xiaoqing (2003) menyatakan bahwa sedimen terbentuk melalui interaksi antara atmosfer dan hidrosfer pada kerak bumi lalu selanjutnya mengalami proses pengendapan.

2.3.1. Bakteri Sedimen

Koloni mikroorganisme dalam jumlah besar bisa didapatkan dari lapisan atas lumpur suatu danau karena memiliki bahan organik yang tinggi. Keberadaan mikroorganisme tersebut dapat dihitung dengan hitung mikroskopik langsung. Jumlah bakteri yang ditemukan antara 1.000.000 sampai dengan beberapa ratus juta per gram lumpur. Jumlah bakteri saprofit secara umum sebanyak beberapa puluh ribu sampai beberapa puluh ratus ribu per gram lumpur. Pada air yang tercemar didapatkan jumlah yang lebih besar (Atlas dan Bartha, 1993).

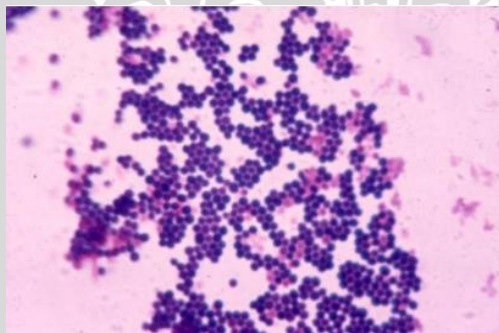
Bakteri dan fungi didapatkan juga dari sedimen laut seperti yang ditemukan pada laut dalam. Mikroorganisme dapat mengabsorpsi partikel-partikel dalam sedimen, sehingga hal ini salah satu kesulitan dalam menghitung jumlahnya (Sahoo dan Dhal 2008).

2.4. Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya dan Manusia

Bakteri patogen merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia, hewan dan juga tumbuhan (Pelczar dan Chan, 2005). Beberapa jenis bakteri patogen yang umum menjadi masalah kesehatan manusia yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* sedangkan beberapa bakteri patogen pada organisme budidaya adalah *Aeromonas hydrophilla*, *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyi*

2.4.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk bulat dan tidak teratur (Gambar 4). *Staphylococcus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan berbagai macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *Staphylococcus* dapat menjadi resisten terhadap beberapa jenis antimikroba (Jawetz *et al.*, 2003).



Gambar 4. *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.*, 2003)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Brooks *et al.* (2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryota

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillates

Family : Staphylococcaeae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies: *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 – 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengikat (Jawetz *et al.*, 2003).

2.4.2. *Vibrio alginolyticus*

Bakteri patogen utama yang sering menyerang udang maupun ikan terutama ikan kerapu adalah bakteri *Vibrio alginolyticus*. Kasus vibriosis pada udang di Indonesia ditemukan pertama sekitar awal 1980. Menurut penelitian Johnny *et al.*, (2002) di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali, kasus penyakit borok pada ikan kerapu dapat menyebabkan kematian masal ikan dan bakteri penyebab infeksi ini adalah *V. alginolyticus*.

Klasifikasi *Vibrio alginolyticus* berdasarkan Bergeys Manual of Bacteriology (Buchanan dan Gibbons, 1974) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

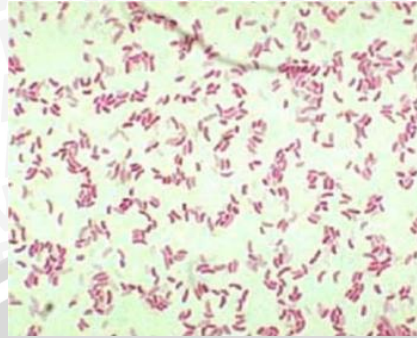
Ordo : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio alginolyticus*

Morfologi sel *Vibrio alginolyticus* ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. *Vibrio alginolyticus* (Fajriani, 2011)

Vibrio alginolyticus dicirikan dengan pertumbuhannya yang bersifat swarm pada media padat non selektif. Ciri lain adalah gram negatif, motil, bentuk batang, fermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan maltosa, dan tumbuh sangat baik pada media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*) Agar (Fajriani, 2011).

2.5. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Untuk metode pengujian antibakteri suatu zat, metode yang sering digunakan diantaranya metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan kertas cakram atau sumuran yang ke dalamnya dimasukkan antimikroba dalam jumlah tertentu dan ditempatkan dalam media padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri patogen. Setelah diinkubasi akan terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram atau sumuran, diameter zona bening tersebut yang dijadikan ukuran seberapa besar antimikroba tersebut dapat menghambat pertumbuhan patogen (Dart, 1996 dalam Ayu, 2004).

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

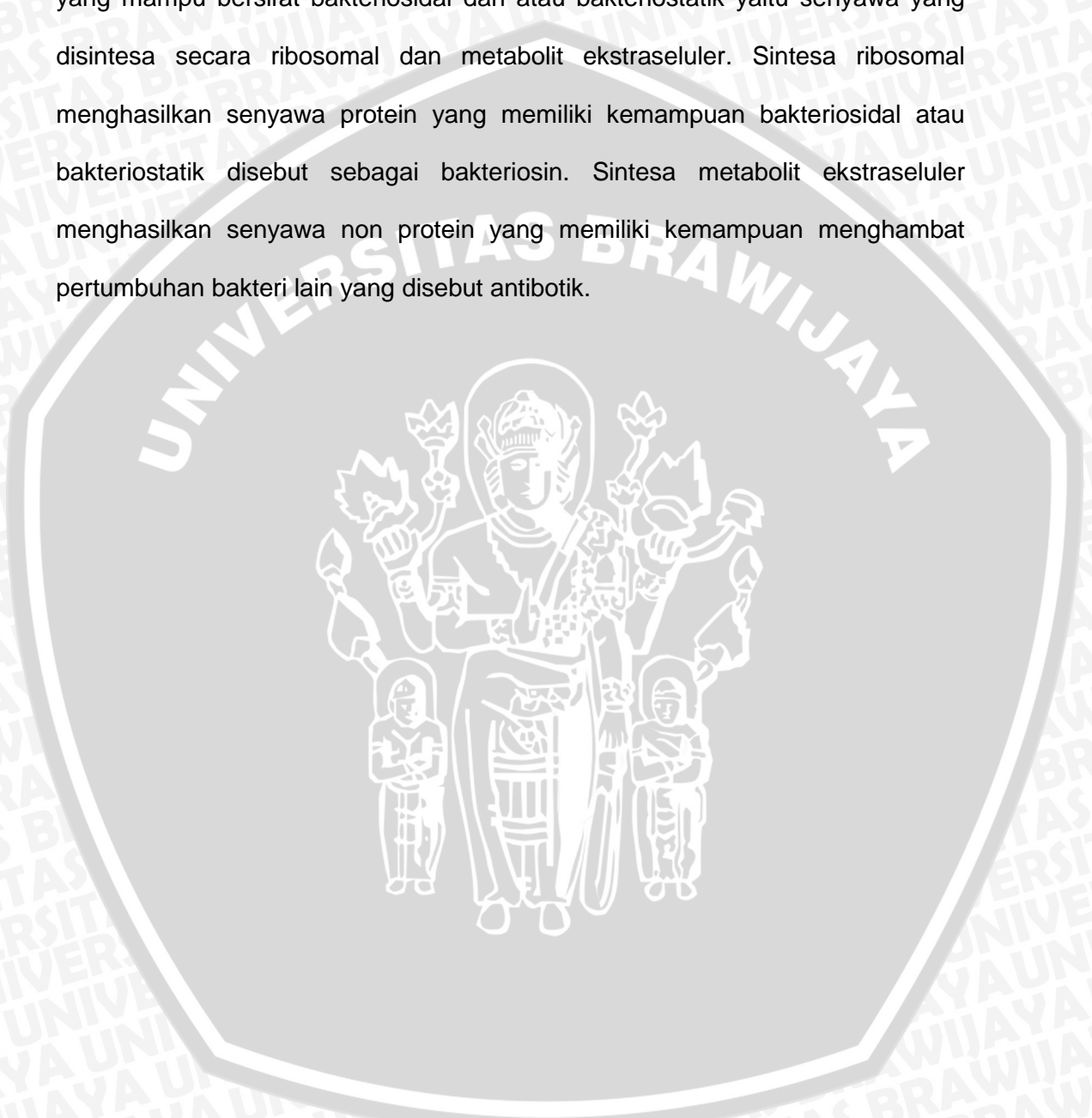
2.6. Sifat Antibakteri

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada zat yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik dan yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai bakterisida. Penghambatan pertumbuhan bakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis dinding sel melibatkan gangguan pada sintesis peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan komponen utama dinding sel, sehingga bakteri menjadi lisis (Ganiswarna, 1995 *dalam Ayu*, 2004).

Salah satu upaya untuk melawan mikroba patogen adalah dengan menggunakan mikroba lain yang mempunyai sifat antagonis (antimikroba) sebagai pengganggu atau penghambat metabolisme mikroba lainnya. Mikroba antagonis yang memiliki kemampuan antimikroba tersebut dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh mikroba pada umumnya merupakan metabolit sekunder yang tidak digunakan untuk proses pertumbuhan (Schlegel, 1993). Mikroba yang memiliki kemampuan antimikroba

dan menghasilkan senyawa antimikroba adalah bakteri, aktinomycetes, dan kapang (Radji, 2005).

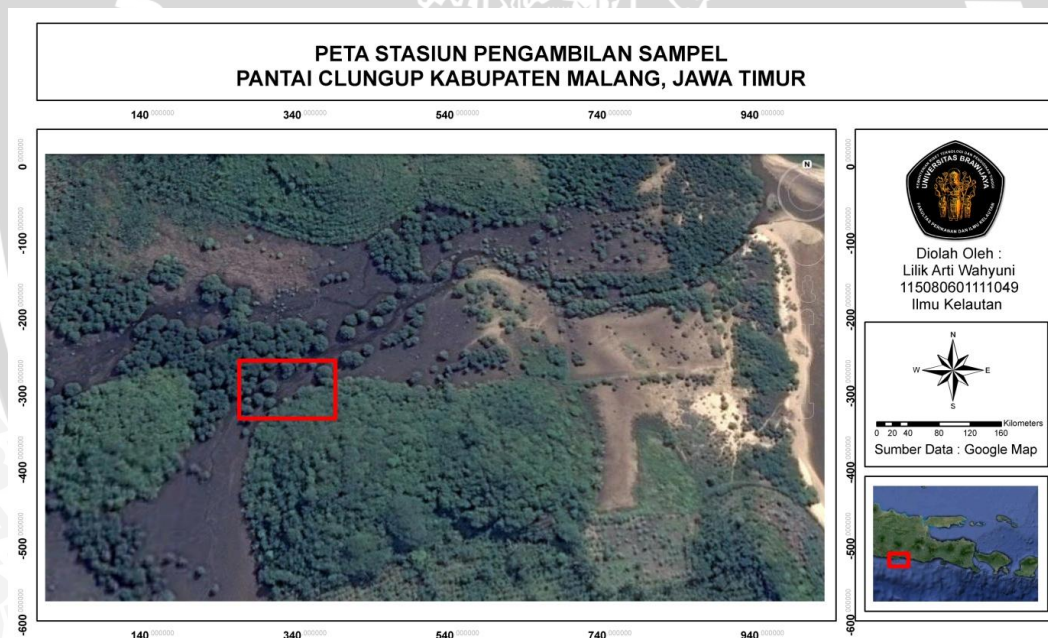
Menurut Cleveland *et al.* (2001), terdapat dua bagian besar dari bakteri yang mampu bersifat bakteriosidal dan atau bakteriostatik yaitu senyawa yang disintesa secara ribosomal dan metabolit ekstraseluler. Sintesa ribosomal menghasilkan senyawa protein yang memiliki kemampuan bakteriosidal atau bakteriostatik disebut sebagai bakteriosin. Sintesa metabolit ekstraseluler menghasilkan senyawa non protein yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain yang disebut antibiotik.



3. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian skripsi ini dilakukan pada periode bulan Maret - Mei 2015. Lokasi pengambilan sampel air dan sedimen terletak di Pantai Clungup, Desa Tambakrejo, Kecamatan Sumbermanjing Wetan, Kabupaten Malang. Lokasi pengambilan sampel berada pada titik $8^{\circ}43'76''$ LS dan $112^{\circ}66'58''$ BT. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri pada air dan sedimen dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Lokasi pengambilan sampel air dan sedimen ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Lokasi Pengambilan Sampel

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat pada saat pengambilan sampel dan alat-alat yang digunakan dalam laboratorium.

Alat-alat tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat, Spesifikasi dan Fungsinya

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	<i>Global Positioning System (GPS)</i>	Garmin 60 CSX	Menentukan titik koordinat pengambilan sampel
2.	Sendok pasir	-	Mengambil sampel sedimen
3.	Botol <i>polyethilen</i>	-	Wadah sampel air
4.	Toples kaca	-	Wadah sampel sedimen
5.	<i>Coolbox</i>	Shinpo ukuran 25 liter	Menyimpan sampel
6.	<i>Autoclave</i>	Suhu 121°C Tekanan 1 atm Waktu 15 menit	Sterilisasi basah
7.	Timbangan digital	AND ketelitian 0,1	Mengukur berat bahan
8.	Inkubator	Redline	Menginkubasi dengan suhu yang dibutuhkan
9.	<i>Vortex mixer</i>	Model:VN-2000DIGISYTEM	Menghomogenkan sampel pada tabung reaksi
10.	<i>Hot plate</i>	IKAMAG 300°C	Sumber panas skala besar
11.	<i>Laminary Air Flow (LAF)</i>	AIRTECH	Tempat pada saat proses inokulasi bakteri
12.	Mikroskop	Olympus CX21	Mengamati morfologi sel bakteri
13.	Kulkas	Electrolux	Menyimpan sampel dan media isolasi
14.	Erlenmayer	HERMA 500 ml	Tempat pembuatan media TSA dan TSB
15.	Cawan Petri	STERIPLAN	Tempat menumbuhkan dan membiakkan bakteri
16.	Tabung reaksi	IWAKI PYREX	Tempat larutan pengencer
17.	Rak tabung reaksi	<i>Stainless steel</i>	Tempat tabung reaksi
18.	<i>Beaker glass</i>	SCHOTT DURAN 1000 ml	Tempat pencampuran sementara
19.	Gelas ukur	HERMA 100 ml	Mengukur volume larutan yang akan digunakan
20.	Pipet tetes	-	Mengambil larutan dalam skala kecil
21.	Mikropipet	Socorex 1000 µl	Mengambil larutan dengan ketelitian 100 – 1000 µL
22.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan

Tabel 1. Lanjutan

No.	Alat	Spesifikasi	Kegunaan
22.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan
23.	Bunsen	-	Sumber panas skala kecil dan pengkondisian aseptis
24.	Jarum ose	-	Menginokulasi bakteri dari media padat ke media cair
25.	<i>Object glass</i>	Sail Brand 23	Tempat obyek yang diamati
26.	<i>Cover glass</i>	Duran	Menutup obyek glass
27.	<i>Bluetip</i> dan <i>Yellowtip</i>	Ukuran 1000 µl dan 100 µl	Dipasang pada mikropipet untuk mengambil larutan
28.	<i>Sprayer</i>	-	Tempat akuades dan alkohol 70%
30.	<i>Crushable tank</i>	<i>Stainless stell</i>	Membantu mengambil alat dalam kondisi panas
33.	<i>Triangle</i>	-	Meratakan sampel pada metode cawan sebar
34.	Sendok bahan	<i>Stainless stell</i>	Membantu mengambil media TSA dan NB
35.	Pipet volume	HBG 10 ml	Mengambil larutan dengan skala yang ditentukan
36.	Bola hisap	D&N	Dipasang di pangkal pipet volume untuk membantu mengambil larutan
37.	Jangka Sorong	Krisbow Digital Capiler	Mengukur diameter zona hambat
38.	Botol Urine	-	Tempat merendam kertas cakram

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini seperti media biakan bakteri diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini secara spesifik disebutkan seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan, Spesifikasi dan Fungsinya

No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	<i>Tryptic Soy Agar (TSA)</i>	Oxoid 40 gram/L	Media padat untuk menumbuhkan bakteri
2.	<i>Tryptic Soy Broth (TSB)</i>	Merck 30 gram/L	Media cair untuk membiakkan bakteri

Tabel 2. Lanjutan

No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
3.	Air	Sampel	Sampel
4.	Sedimen	Sampel	Sampel
5.	Akuades	Hydrobath pH 7	Pelarut dan penguat warna primer dalam pewarnaan gram
6.	Kristal ungu	PA	Pewarna primer
7.	Safranin	PA	Pewarna sekunder
8.	Iodium	PA	Penegas warna
9.	Alkohol 70%	PA	Pengondisian aseptis dan peluruh lemak dalam pewarnaan gram
10.	Larutan pengencer	MgSO ₄ 0,7 % PA ; NaCl 2,4 PA; KCl 0,075 % PA	Mengencerkan sampel air dan sedimen
11.	McFarland 0,5	1,5 x 10 ⁸ sel/ml	Pembanding kepadatan bakteri dalam media cair
12.	Kapas	One Med 500 gram	Menjaga dari kontaminan
13.	Aluminium foil	Total Warp 7,6 m X 300 mm	Membungkus alat
14.	Kertas Label	Cadwell 9 x 20 mm	Penanda
15.	Tisu	Montiss 2 ply	Mengeringkan alat yang basah
16.	Tali	-	Mengikat Alat
17.	Koran	-	Membungkus alat yang disterilisasi
18.	Plastik	-	Membungkus cawan dan tabung reaksi saat disimpan dalam inkubator dan kulkas
19.	Spirtus	-	Bahan bakar bunsen
20.	Cotton swab	-	Menggores bakteri ke media padat
21.	Kertas cakram	Oxoid 6mm	Uji potensi antibakteri

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *eksperimental laboratory* dengan data disajikan secara deskriptif yang bertujuan memberikan gambaran yang terjadi menggunakan prosedur ilmiah. Metode ini merupakan metode penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain (Prastowo, 2010). Pada penelitian ini dijabarkan proses pengambilan sampel air dan sedimen, pembuatan media biakan, pembuatan larutan pengencer,

pengenceran bertingkat, penanaman sampel air dan sedimen, screening bakteri kandidat, identifikasi bakteri kandidat secara morfologi koloni dan morfologi sel, pembuatan stok bakteri, proses pengujian potensi antibakteri pada air dan sedimen dengan metode uji cakram.

3.3.1. Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh langsung di lapangan oleh orang yang melakukan penelitian. Data primer dalam penelitian ini data hasil identifikasi bakteri air dan sedimen, data hasil uji potensi antibakteri dengan metode cakram serta data hasil pengukuran zona bening bakteri air dan sedimen ditantang dengan bakteri patogen yaitu *Vibrio alginolyticus* dan *Staphylococcus aureus*.

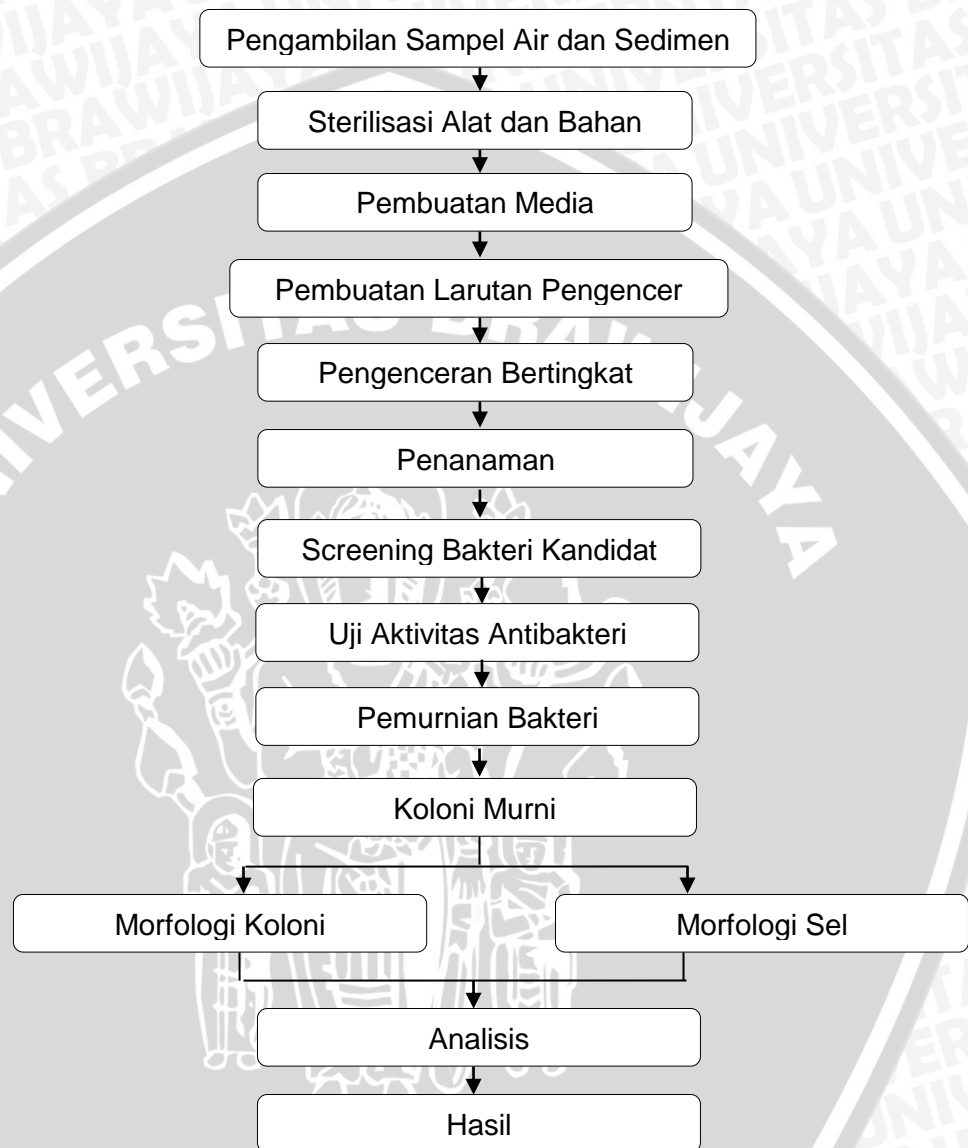
3.3.2. Data sekunder

Data sekunder meliputi keadaan umum lokasi dan perairan yang ada. Data sekunder adalah data yang telah dahulu dikumpulkan dan dilaporkan oleh orang di luar dari penyelidik sendiri, walaupun yang dikumpulkan itu sesungguhnya adalah data yang asli (Surakhmad, 1985). Data sekunder lainnya meliputi studi literatur berupa jurnal ilmiah, laporan Penelitian Skripsi, kepustakaan yang mendukung skripsi dan situs internet.

3.4. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan dimulai dari proses pengambilan sampel di lapang, kemudian dilanjutkan dengan pengujian di laboratorium antara lain uji pendahuluan dan uji utama. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui metode isolasi yang tepat, metode isolasi yang digunakan pada uji pendahuluan adalah metode tuang dan metode sebar.

Uji utama meliputi proses sterilisasi alat dan bahan, isolasi dan identifikasi morfologi koloni dan sel bakteri air dan sedimen, uji aktivitas antibakteri. Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 7 berikut ini.



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air dan sedimen dilakukan dengan botol polyethilen dan sendok pasir. Pengambilan sampel ini dilakukan secara acak (*purposive random sampling*) di Pantai Clungup dengan cara merendam botol *polyethilen* hingga terisi penuh air lalu mengambil sedimen dengan

sendok pasir pada tempat yang sama. Sedimen dimasukkan ke dalam toples kaca. Sampel yang telah dipreparasi dimasukkan ke dalam *coolbox* untuk dianalisis selanjutnya di laboratorium.

3.4.2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan merupakan hal pertama yang harus dilakukan sebelum melakukan penelitian. Sterilisasi bertujuan untuk membebaskan alat dan bahan dari segala macam bentuk kehidupan, terutama mikroba (bakteri, fungi, protozoa, virus). Proses sterilisasi alat dan bahan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan autoklaf listrik. Adapun langkah kerja proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf yaitu:

- 1) Alat maupun bahan yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas koran atau alumunium foil dan diikat dengan tali
- 2) Air dimasukkan ke dalam autoklaf sampai batas elemen pemanas
- 3) Alat maupun bahan yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf kemudian ditutup autoklaf secara diagonal hingga rapat
- 4) Menghubungkan kabel autoklaf ke sumber listrik dan disterilisasi pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit
- 5) Mematikan autoklaf dan menunggu tekanan pada autoklaf menunjukkan angka 0
- 6) Membuka klep lalu autoklaf dibuka secara diagonal
- 7) Alat dan bahan yang telah disterilisasi kemudian disimpan.

3.4.3. Pembuatan Media

Bakteri yang diisolasi membutuhkan media pertumbuhan untuk kelangsungan hidupnya. Media pertumbuhan yang digunakan untuk isolasi bakteri pada penelitian adalah *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *Tryptic Soy Broth* (TSB). Berikut ini tahapan pembuatan media pada penelitian ini :

- a. *Tryptic Soy Agar* (TSA)

Media TSA adalah media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri yang berasal dari laut karena komposisi bahan dari media ini menyesuaikan dengan nutrisi yang umumnya digunakan bakteri laut. Pembuatan media TSA adalah dengan memasukkan TSA ke dalam erlenmeyer sebanyak 5,6 gr lalu dilarutkan dengan menambahkan 140 ml akuades (untuk 7 cawan petri), dipanaskan hingga mendidih diatas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan spatula. Setelah itu media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

b. *Tryptic Soy Broth* (TSB)

Komposisi TSB per liter akuades terdiri dari 1.5 gr ekstrak yeast, 1.5 gr ekstrak daging, 5 gr pepton, 5 gr NaCl. Bubuk TSB dimasukkan ke dalam *beaker glass* sebanyak 1.69 gr lalu dilarutkan dengan menambahkan 130 ml akuades, dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan spatula. Setelah itu media dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 ml. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4. Pembuatan Larutan Pengencer

Larutan pengencer terdiri dari MgSO₄ 0,7%; NaCl 2,4%; dan KCl 0,075 %. Ketiganya ditimbang sesuai dengan kebutuhan. Larutan pengencer digunakan untuk mengencerkan sampel air dan sedimen. Langkah-langkah pembuatan larutan pengencer adalah sebagai berikut :

1. Menimbang MgSO₄ 0,7%; NaCl 2,4%; dan KCl 0,075 % sesuai kebutuhan dengan timbangan digital
2. Memasukkan ke dalam *beaker glass* dan menambahkan akuades dan menghomogenkan dengan spatula

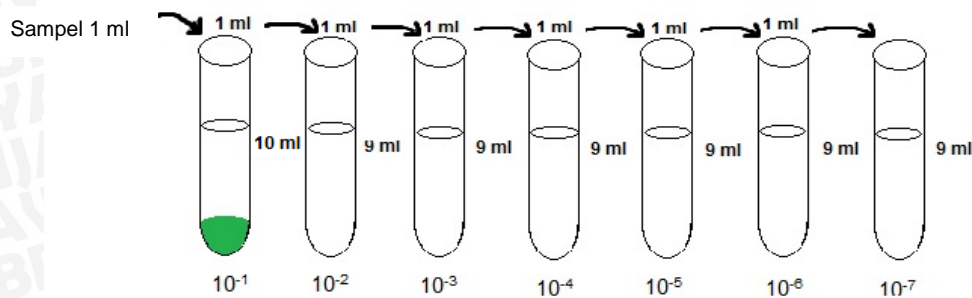
3. Memasukkan ke dalam tabung reaksi dengan bantuan pipet volume masing-masing 10 ml
4. Menutup dengan kapas, membungkus dengan koran dan mengikat dengan tali
5. Memasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm

3.4.5. Pengenceran Bertingkat

Pengenceran bertingkat dilakukan untuk mengencerkan konsentrasi nutrisi dan mengurai koloni mikroorganisme yang bergerombol padat sehingga dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganismenya secara spesifik dan mendapatkan perhitungan yang tepat. Adapun langkah kerja pengenceran bertingkat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengambil sampel air atau sedimen sebanyak 1 ml dengan menggunakan mikropipet
2. Memasukkan 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan pengencer dan menghomogenkan dengan *vortex mixer* dan mencatat sebagai 10^{-1}
3. Mengambil 1 ml sampel dari tabung 10^{-1}
4. Memasukkan ke dalam tabung reaksi lain yang berisi 9 ml larutan pengencer dan menghomogenkan dengan *vortex mixer* dan mencatat sebagai 10^{-2}
5. Begitu seterusnya sampai mendapatkan 10^{-7}

Langkah-langkah pengenceran bertingkat juga disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Proses Pengenceran

3.4.6. Penanaman

Penanaman bakteri pada penelitian ini menggunakan metode tuang (*pour plate*). Penanaman yang digunakan untuk sampel air dan sedimen adalah 10^{-1} sampai 10^{-7} . Adapun langkah kerja penanaman bakteri dengan metode tuang (*pour plate*) yaitu sebagai berikut sampel air dan sedimen dari tabung reaksi 10^{-1} sampai 10^{-7} diteteskan sebanyak 1 ml pada cawan petri, selanjutnya media TSA di tuang ke cawan dan ditunggu hingga memadat. Cawan petri diberi label, dibungkus plastik wrap untuk selanjutnya diinkubasi di inkubator dengan suhu 27°C - 30°C selama 24 jam.

3.4.7. Screening Bakteri Kandidat

Bakteri kandidat diperoleh dari penanaman 10^{-1} sampai 10^{-7} . Koloni-koloni bakteri yang tumbuh pada setiap cawan diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam media TSB hingga memperoleh 6 isolat bakteri kandidat. Keenam bakteri kandidat dipilih karena dianggap telah dapat mewakili koloni-koloni yang tumbuh. Keenam bakteri kandidat inilah yang akan dimurnikan, diuji aktivitas antibakteri dengan bakteri patogen dan diamati morfologi koloni dan selnya. Adapun langkah kerja screening bakteri kandidat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan cawan-cawan yang ditumbuhi koloni bakteri

2. Memijarkan jarum ose di atas bunsen dan menginokulasikan satu koloni bakteri
3. Mencelupkan jarum ose ke dalam media TSB
4. Menghomogenkan dengan *vortex mixer*
5. Menyamakan kekeruhan media TSB dengan McFarland 0,5 (Lisdayanti, 2013)
6. Menyimpan isolat bakteri kandidat di dalam kulkas

3.4.8. Pembuatan Stok Bakteri Patogen

Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Vibrio alginolyticus* dan *Staphylococcus aureus*. Kedua bakteri patogen ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Adapun langkah kerja pembuatan stok bakteri patogen adalah sebagai berikut :

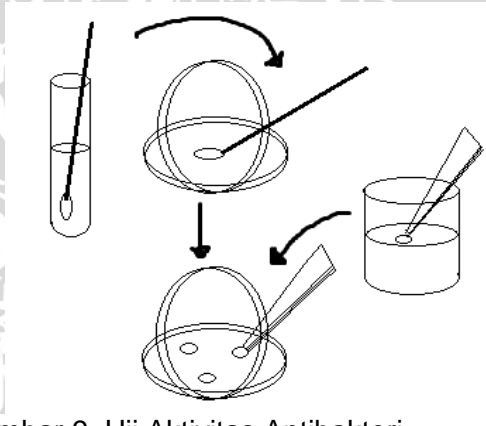
1. Menyiapkan isolat bakteri patogen
2. Memijarkan jarum ose di atas bunsen dan menginokulasikan bakteri patogen
3. Mencelupkan jarum ose ke dalam media TSB
4. Menghomogenkan dengan *vortex mixer*
5. Menyamakan kekeruhan media TSB dengan McFarland 0,5 (Lisdayanti, 2013)
6. Menyimpan isolat bakteri patogen di dalam kulkas

3.4.9. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode cakram (Whipps,1987) (Gambar 9). Metode ini dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri dari bakteri air dan sedimen yang diduga berpotensi menghambat aktivitas bakteri patogen. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung diameter zona bening (zona hambat) pada kertas cakram dalam satuan

millimeter (mm). Adapun langkah kerja uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mempersiapkan cawan petri yang berisi media TSA
2. Bakteri patogen yang telah dikultur diinokulasi dengan *cotton swab* di media TSA
3. Menggores *cotton swab* menjadi 4 sisi cawan petri
4. *Paper disk* atau kertas cakram distrelisasi terlebih dahulu
5. Suspensi bakteri kandidat diteteskan pada kertas cakram sebanyak 50 μL (Ravikumar *et al.*, 2010) dan dibiarkan kering
6. Meletakkan kertas cakram pada cawan petri secara aseptis
7. Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
8. Mengamati daya hambat dengan menghitung diameter zona bening.



Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri

3.4.10. Pemurnian Bakteri

Pemurnian atau *Purifikasi* koloni bakteri bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri yang benar-benar murni. Pada penelitian ini pemurnian koloni bakteri dilakukan dengan metode metode cawan tuang. Adapun langkah kerja dari pemurnian koloni bakteri yaitu koloni yang terpisah diambil lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan pengencer kemudian diambil 1 ml suspesi bakteri dan diencerkan sebanyak dua kali seri

pengenceran. Seri pengenceran 10^{-2} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri setelah itu, dituangkan media TSA, ditunggu memadat kemudian cawan petri dibungkus dan diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 20°C - 25°C .

3.4.11. Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel

Pengamatan morfologi koloni dilakukan sesuai dengan petunjuk Dwidjoseputro (2005). Pengamatan morfologi koloni pada penelitian ini menggunakan kaca lup dengan membedakan bakteri berdasarkan bentuk, tepi, permukaan (elevasi) dan warna koloni sedangkan pengamatan morfologi sel dilakukan sesuai dengan petunjuk Pelczar dan Chan (2005) menggunakan teknik pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah salah satu teknik pewarnaan diferensial yang digunakan untuk mencirikan bakteri ke dalam dua kelompok besar yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Pelczar dan Chan, 2005). Adapun tahapan dari pewarnaan gram yaitu :

1. Menyiapkan isolat murni
2. Memijarkan jarum ose di atas bunsen
3. Menginokulasi isolat murni pada *obyek glass* kemudian memfiksasi di atas bunsen
4. Meneteskan kristal ungu 1-2 tetes dan menunggu selama 1 menit kemudian dibilas dengan akuades
5. Meneteskan iodium 1-2 tetes dan menunggu selama 2 menit kemudian dibilas akuades
6. Membilas dengan alkohol 70% kemudian dibilas akuades
7. Meneteskan safranin dan menunggu selama 30 detik kemudian dibilas akuades
8. Menutup *objek glass* dengan *cover glass* yang selanjutnya mengamati dengan mikroskop.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Kondisi Lingkungan Habitat Mangrove Pantai Clungup

Pengambilan sampel air dan sedimen berada pada habitat mangrove Pantai Clungup, Kabupaten Malang tepatnya pada titik koordinat 8°43'76" LS 112°66'58" BT. Kondisi perairan secara morfologi, masih alami dan belum banyak campur tangan manusia. Banyak spesies gastropoda yang ditemukan pada bagian kaki atau akar mangrove *Avicennia marina*. Gastropoda yang paling mendominasi adalah spesies *Telescopium telescopium* dan *Terebralia sulcata*.

Aktivitas mikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungannya. Perubahan lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan fisiologi mikroba. Beberapa kelompok mikroba sangat resisten terhadap perubahan faktor lingkungan. Mikroba tersebut dapat dengan cepat menyesuaikan diri dengan kondisi baru tersebut. Faktor lingkungan meliputi faktor-faktor abiotik (fisika dan kimia) dan faktor biotik (Sumarsih, 2003). Menurut Karlana (2009) bakteri tumbuh dan berkembang pada lingkungan karena adanya nutrisi yang tersedia, suhu yang sesuai, keasaman atau kebasahan (pH) tempat tumbuh, kandungan udara dan kelembaban udara.

Parameter lingkungan yang diukur dalam penelitian ini meliputi suhu, pH, salinitas dan DO. Nilai pengukuran parameter lingkungan dan perbandingannya dengan baku mutu disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Rerata Pengukuran Parameter Lingkungan

Stasiun	DO	Salinitas	Suhu	pH
Pantai Clungup	7,0 ± 0,1 mg/L	42 ± 0,5‰	29 ± 0,3°C	7,72 ± 0,7
Baku Mutu (Kepmen LH No. 51 th. 2004)	>3	33-34 ‰	28-30°C	7-8,5

Dari nilai pengukuran parameter lingkungan di atas, dapat diketahui bahwa lingkungan Pantai Clungup merupakan habitat yang sesuai untuk

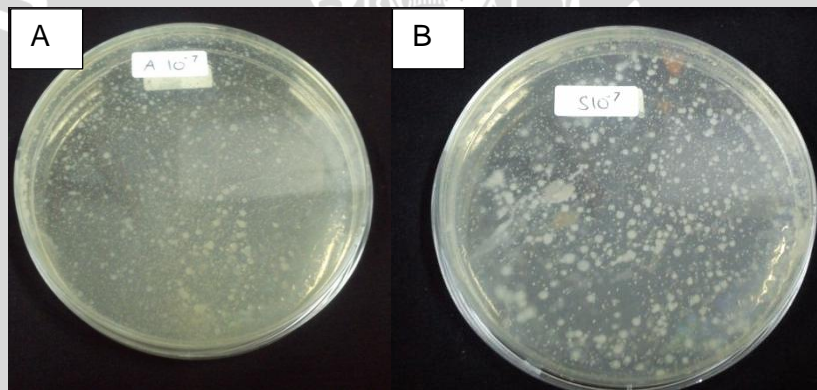
pertumbuhan bakteri. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Sumarsih (2003) bahwa bakteri yang hidup di dalam tanah dan air umumnya bersifat mesofil dengan suhu optimum 25 - 37°C, tetapi ada juga yang dapat hidup di atas 50°C (termotoleran). Derajat keasaman atau pH optimum di lingkungan yang umumnya disukai oleh bakteri adalah pH netral (pH 7), tetapi juga dapat hidup pada pH tinggi. Untuk kadar oksigen terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO), bakteri dapat tumbuh dengan DO minimal 2 mg/L. Menurut Herd *et al.*, (2001), bakteri dapat hidup pada salinitas kurang dari 85 ‰. Berdasarkan hal tersebut maka salinitas yang diperoleh dalam penelitian ini dapat mendukung pertumbuhan bakteri.

4.2. Isolasi Bakteri Air dan Sedimen

Mikroba di lingkungan pada umumnya berada dalam populasi dengan berbagai macam koloni sehingga sulit untuk memperkirakan jumlah koloni yang berada pada suatu sampel, untuk itu perlu dilakukan pengenceran. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dwipayana dan Ariesyady (2009) bahwa pengenceran dilakukan untuk mengetahui perkiraan jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam suatu sampel. Selain itu, pengenceran dilakukan dari 10^{-1} sampai 10^{-7} agar koloni bakteri yang tumbuh pada media tidak terlalu padat dan memudahkan dalam pengidentifikasian bakteri selanjutnya. Dalam penelitian ini sampel air dan sedimen diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-7} dengan tujuan agar mikroorganisme tidak terlalu padat.

Sampel air dan sedimen yang telah diencerkan kemudian ditumbuhkan pada media TSA. Media TSA yang juga disebut *Soybean-Casein Digest Agar* digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme aerobik dan anaerobik, komposisi TSA terdiri atas nutrient dasar dan berbagai suplemen untuk meningkatkan media ini (Leavitt *et al.*, 1955).

Terdapat dua metode untuk memperoleh biakan murni yaitu teknik cawan sebar dan cawan tuang. Kedua teknik ini berdasarkan pada pengenceran organisme sehingga dapat dipisahkan hanya spesies tertentu berada sebagai sel tunggal. Berdasarkan hasil uji pendahuluan, bakteri yang menunjukkan kemampuan antibakteri diperoleh dari penanaman metode tuang, maka dalam penelitian ini digunakan metode tuang, metode ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri anaerob dan aerob fakultatif. Pada penelitian Arwiyanto *et al.* (2007) juga menunjukkan hasil bahwa isolat yang diperoleh dari cawan tuang menunjukkan kemampuan antibakteri, isolat ini dapat tumbuh pada kondisi oksigen yang berkecukupan maupun dalam kondisi oksigen terbatas. Hasil penanaman kedua sampel ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil Penanaman Sampel a). Air b). Sedimen

Bakteri yang hidup di perairan laut umumnya uniseluler, tidak memiliki klorofil, berkembang biak dengan pembelahan sel secara transversal atau biner, sebagian besar berbentuk batang, gram negatif dan bergerak secara aktif. Contoh bakteri yang banyak dijumpai di laut adalah *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* dan *Bacterium* (Hikmat, 2015).

Sedimen mengandung populasi mikroorganisme yang melimpah dengan keanekaragaman yang tinggi. Beberapa kelompok fisiologi mikroorganisme sedimen antara lain kelompok mikroorganisme aerob, aerob fakultatif,

metanogen, homoasetonogen, pereduksi sulfat, pereduksi sulfur, denitrifikasi, pereduksi besi dan fermentatif (Madigan *et al.*, 2003).

Penanaman sampel air dan sedimen dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, setiap ulangan pada masing-masing sampel dipilih enam isolat bakteri kandidat untuk selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri. Hasil perhitungan koloni pada setiap pengulangan disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Perhitungan Koloni Bakteri

Pengenceran	Jumlah Koloni		
	Penanaman 1	Penanaman 2	Penanaman 3
Air			
10^{-1}	200	123	109
10^{-2}	70	177	273
10^{-3}	100	47	7
10^{-4}	250	58	176
10^{-5}	250	4	-
10^{-6}	250	29	32
10^{-7}	250	3	67
Sedimen			
10^{-1}	300	127	TBUD
10^{-2}	255	TBUD	TBUD
10^{-3}	257	TBUD	TBUD
10^{-4}	254	129	296
10^{-5}	181	-	87
10^{-6}	175	10	-
10^{-7}	100	45	-

Keterangan : TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung, jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada cawan terlalu banyak untuk dihitung

4.3. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dengan membagi cawan petri dibagi menjadi lima bagian, tiga bagian untuk bakteri kandidat, satu bagian untuk kontrol positif dan satu bagian untuk kontrol negatif. Kontrol positif digunakan antibiotik buatan yaitu Tetrasiklin yang dapat menghambat aktivitas bakteri menunjukkan hasil positif (adanya zona bening), sedangkan akuades sebagai kontrol negatif menunjukkan hasil negatif karena tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa akuades sebagai pelarut

universal yang digunakan pada proses pembuatan media penanaman dan pembuatan larutan kontrol positif tidak dapat membunuh atau menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. Hasil diperoleh setelah cawan diinkubasi selama 24 dan 48 jam, terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong digital. Data pengamatan zona bening disajikan dalam Tabel 5.

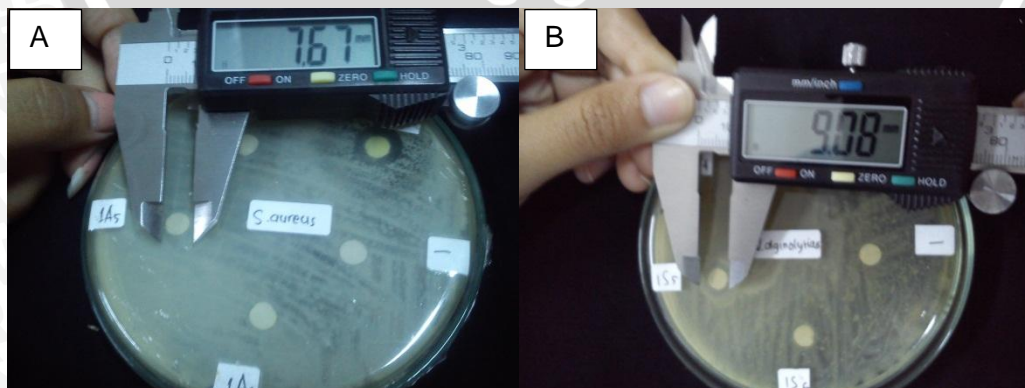
Tabel 5. Hasil Pengukuran Zona Bening

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)							
	<i>S.aureus</i>		Kontrol (+)		<i>V.alginolyticus</i>		Kontrol (+)	
	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam
Uji Aktivitas Antibakteri 1								
1A ₁	-	-			-	-		
1A ₂	0,12	0,25	2,08	3,35	-	-	5,45	5,95
1A ₃	0,05	0,20			1,42*	0,04		
1A ₄	0,99	2,37			-	-		
1A ₅	1,67	2,32	4,46	5,75	0,71*	0,52	6,80	8,60
1A ₆	-	0,48			-	0,58		
1S ₁	1,04	1,64			-	-		
1S ₂	0,19	0,44	3,64	4,89	-	-	5,02	4,95
1S ₃	0,50	0,51			-	-		
1S ₄	-	-			1,08	1,72		
1S ₅	2,25*	1,05	5,52	5,55	2,76	3,08	4,22	3,57
1S ₆	-	0,98			0,70*	0,82		
Uji Aktivitas Antibakteri 2								
2A ₁	-	1,38*			1,70*	-		
2A ₂	0,76*	0,95*	4,89	4,47	0,49*	-	4,47	2,50
2A ₃	1,81*	1,27*			0,31*	-		
2A ₄	-	-			2,98*	-		
2A ₅	-	-	2,25	17,67	0,73*	-	6,45	4,83
2A ₆	-	4,00*			1,28*	-		
2S ₁	0,84*	-			1,92*	1,28*		
2S ₂	1,06*	1,72	2,03	1,82	1,62*	1,19*	3,77	4,49
2S ₃	1,79*	-			1,85*	1,36*		
2S ₄	1,21*	-			1,85*	0,61*		
2S ₅	3,21*	3,58*	9,01	9,37	4,09*	0,50	4,40	3,48
2S ₆	1,41*	2,00*			1,03*	0,87*		
Uji Aktivitas Antibakteri 3								
3A ₁	0,86	1,21			-	-		
3A ₂	-	1,37*	2,19	2,18	1,57*	-	4,43	4,17
3A ₃	-	-			-	-		
3A ₄	1,50*	-			0,24	0,52		
3A ₅	2,67*	2,50	3,44	2,45	-	-	3,29	2,33
3A ₆	2,22*	3,31*			-	-		
3S ₁	2,59*	1,87*			3,30*	1,80*		
3S ₂	1,00*	0,96*	2,07	2,11	0,78*	-	3,32	3,18
3S ₃	0,95*	1,07*			0,29*	-		
3S ₄	1,19	-			1,83*	1,98		
3S ₅	-	-	3,12	3,73	0,27	-	3,04	2,71
3S ₆	-	-			0,01*	-		

Pada Uji Aktivitas Antibakteri 1, isolat 1A₅ dan 1S₅ merupakan isolat dengan zona bening terbesar seperti ditunjukkan pada Tabel 5. Isolat 1A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan peningkatan zona bening dari 1,67 mm menjadi 2,32 mm pada 48 jam pengamatan. Pada 24 jam pengamatan terhadap *Vibrio alginolyticus*, isolat ini yang pada awalnya hanya mampu menghambat dengan diameter 0,71 mm kemudian menunjukkan adanya zona bening sebesar 0,52 mm pada 48 jam pengamatan.

Sama halnya dengan isolat 1S₅ terhadap *Staphylococcus aureus*, juga menunjukkan kemampuan menghambat patogen pada 24 jam pengamatan dengan diameter sebesar 2,25 mm, kemudian pada 48 jam pengamatan menunjukkan adanya zona bening dengan diameter sebesar 1,05 mm. Peningkatan diameter zona bening ditunjukkan oleh isolat yang sama terhadap *Vibrio alginolyticus*. Pada 24 jam pengamatan, diameter zona bening yang dihasilkan adalah sebesar 2,76 mm dan meningkat menjadi 3,08 mm pada 48 jam pengamatan.

Dengan demikian, kedua isolat tersebut dapat membunuh kedua patogen yang diujikan. Meskipun zona bening yang ditunjukkan masih tergolong kecil. Pengukuran diameter zona bening kedua isolat tersebut disajikan dalam Gambar 11.

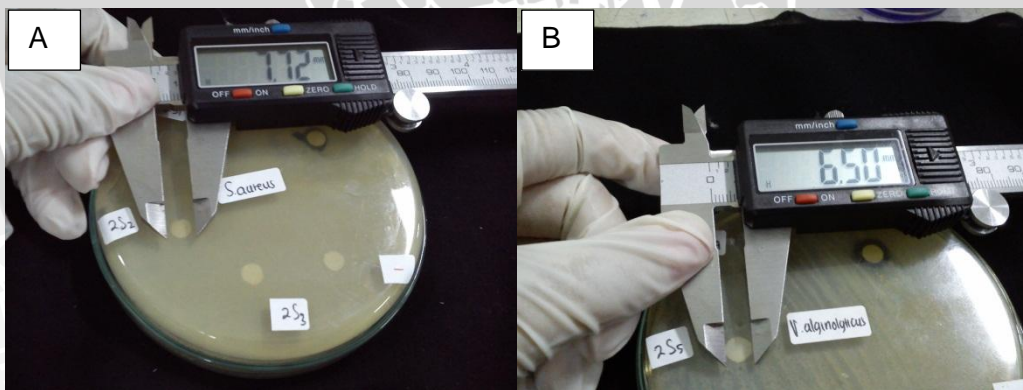


Gambar 11. Pengukuran Zona Bening Isolat a).1A₅ dan b).1S₅

Pada Uji Aktivitas Antibakteri 2, isolat 2S₂ dan 2S₅ merupakan isolat dengan zona bening terbesar seperti ditunjukkan Tabel 5. Isolat 2S₂ terhadap *Staphylococcus aureus*, menunjukkan kemampuan menghambat patogen pada 24 jam pengamatan dengan diameter 1,06 mm. Zona bening ditunjukkan isolat tersebut pada 48 jam pengamatan, yaitu sebesar 1,72 mm.

Isolat 2S₅ terhadap *Vibrio alginolyticus* juga menunjukkan aktivitas yang sama, dimana isolat tersebut hanya mampu menghambat patogen tanpa menunjukkan zona bening pada 24 jam pengamatan dengan diameter sebesar 4,09 mm. Zona bening ditunjukkan isolat tersebut pada 48 jam pengamatan, yaitu sebesar 0,50 mm.

Dengan demikian, kedua isolat tersebut dapat dikatakan mampu membunuh patogen yang diujikan. Namun diameter zona bening yang ditunjukkan masih sangat kecil. Pengukuran diameter zona bening isolat tersebut disajikan dalam Gambar 12.



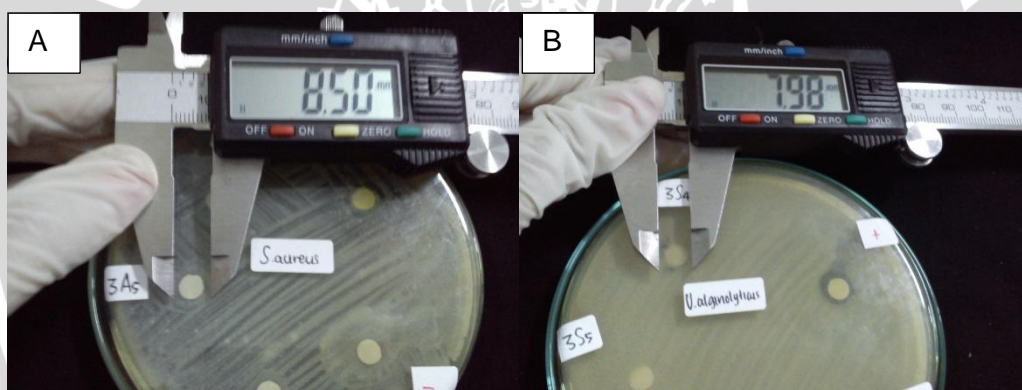
Gambar 12. Pengukuran Zona Bening Isolat a).2S₂ dan b).2S₅

Pada Uji Aktivitas Antibakteri 3, isolat 3A₅ dan 3S₄ merupakan isolat dengan zona bening terbesar seperti ditunjukkan Tabel 5. Isolat 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus*, menunjukkan kemampuan menghambat patogen pada 24 jam pengamatan dengan diameter 2,67 mm. Kemudian pada 48 jam

pengamatan, isolat tersebut menunjukkan adanya zona bening dengan diameter 2,50 mm.

Isolat 3S₄ terhadap *Vibrio alginolyticus* juga menunjukkan aktivitas yang sama, dimana isolat tersebut hanya mampu menghambat patogen tanpa menunjukkan zona bening pada 24 jam pengamatan dengan diameter sebesar 1,83 mm. Zona bening ditunjukkan isolat tersebut pada 48 jam pengamatan, yaitu sebesar 1,98 mm.

Dengan demikian, kedua isolat tersebut dapat dikatakan mampu membunuh patogen yang diujikan. Namun diameter zona bening yang ditunjukkan masih sangat kecil. Pengukuran diameter zona bening isolat tersebut disajikan dalam Gambar 13.



Gambar 13. Pengukuran Zona Bening Isolat a).3A₅ dan b).3S₄

Dari hasil Uji Aktivitas Antibakteri 1-3 diambil masing-masing 2 bakteri kandidat yang mampu membunuh dengan zona bening paling besar, sehingga didapatkan 6 isolat dengan zona bening terbesar yaitu 1A₅, 1S₅, 2S₂, 2S₅, 3A₅ dan 3S₄. Bakteri air dan sedimen menunjukkan aktivitas antibakteri dengan menunjukkan zona bening sebagai indikator adanya daerah hambatan. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antimikrobal yang berdifusi ke dalam agar dari

kertas cakram mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*.

4.4. Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen

Salah satu upaya untuk melawan aktivitas patogen adalah dengan menggunakan mikroba lain yang mempunyai sifat antagonis (antimikroba) sebagai pengganggu atau penghambat metabolisme (Radji, 2005). Hasil penelitian aktivitas antibakteri pada air dan sedimen menunjukkan bahwa isolat yang membentuk zona bening terbesar pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu isolat dengan kode 3A₅ sebesar 2,50 mm sedangkan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* yaitu isolat dengan kode 1S₅ sebesar 3,08 mm (Tabel 6). Aktivitas antibakteri pada isolat tersebut masih tergolong lemah (<5 mm). Hal ini sesuai dengan pernyataan Morales *et al.*, 2003 dalam Kusmarwati dan Indriati, 2008) bahwa aktivitas antibakteri dikelompokkan ke dalam 4 kategori, yaitu : aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm) dan sangat kuat (>20-30 mm).

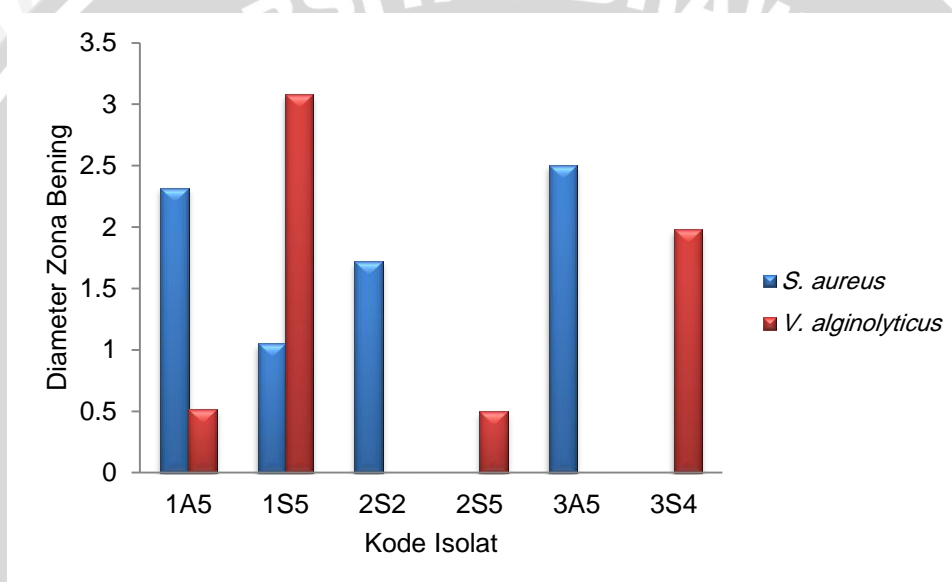
Tabel 6. Isolat dengan Zona Bening Terbesar

Kode Isolat	<i>S. aureus</i>		<i>V. alginolyticus</i>	
	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam
1A ₅	1,67	2,32	0,71*	0,52
1S ₅	2,25*	1,05	2,76	3,08
2S ₂	1,06*	1,72	1,62*	1,19*
2S ₅	3,21	3,58*	4,09*	0,50
3A ₅	2,67*	2,50	-	-
3S ₄	1,19	-	1,83*	1,98

Keterangan : (*) : merupakan isolat yang mampu menghambat, namun tidak terbentuk zona bening

Menurut Tenover (2006), mekanisme penghambatan antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa 1). Gangguan pada sintesis dinding sel, senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri yang dapat mengganggu sintesis dinding sel misalnya senyawa β -lactam dan glikopeptida, 2). Penghambatan sintesis protein, sintesis protein yang dilakukan oleh bakteri

dapat dihambat oleh senyawa antimikroba diantaranya makrolida, aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, streptogramins dan oxazolidinones, 3). Gangguan sintesis asam nukleat, senyawa antimikroba yang dapat mengganggu sintesis asam nukleat adalah flouoroquinolones dan sulfonamide, 4). Menghambat jalur metabolisme, polymyxins adalah salah satu senyawa antimikroba yang dapat menghambat jalur metabolisme bakteri. Perbedaan aktivitas antibakteri pada air dan sedimen terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* setelah 48 jam pengamatan dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Grafik Perbedaan Aktivitas Antibakteri pada Air dan Sedimen terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*

Grafik di atas menunjukkan bahwa isolat 1A₅ dan 1S₅ adalah isolat yang mampu membunuh kedua patogen, dengan menunjukkan adanya zona bening. Keempat isolat lainnya, yaitu 2S₂, 2S₅, 3A₅ dan 3S₄ hanya mampu membunuh salah satu patogen saja. Aaktivitas antibakteri paling besar ditunjukkan oleh isolat 1S₅ terhadap *Vibrio alginolyticus*. Setelah 48 jam, diameter zona beningnya meningkat menjadi 3,08 mm (Tabel 8). *Vibrio alginolyticus* mencapai fase logaritmiknya pada 48 jam inkubasi (Allen, 2005), pada fase ini *Vibrio alginolyticus* sedang mengalami pertumbuhan secara cepat. Namun

pertumbuhannya ternyata mampu dihambat oleh isolat 1S₅. Hal ini memungkinkan bahwa isolat 1S₅ juga mengalami fase logaritmiknya pada 48 jam inkubasi. Sehingga dapat membunuh *Vibrio alginolyticus* dengan menunjukkan adanya zona bening.

Aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ditunjukkan oleh isolat 3A₅ dengan diameter zona bening 2,50 mm setelah 48 jam pengamatan. Penelitian yang dilakukan oleh Pambayun *et al.* (2008), menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* telah mengalami fase stasioner pada 24 jam inkubasi. Pengamatan zona bening dilakukan pada 48 jam, dimungkinkan *Staphylococcus aureus* telah mengalami fase kematian pada 48 jam, jadi pertumbuhannya dapat dihambat oleh isolat 3A₅.

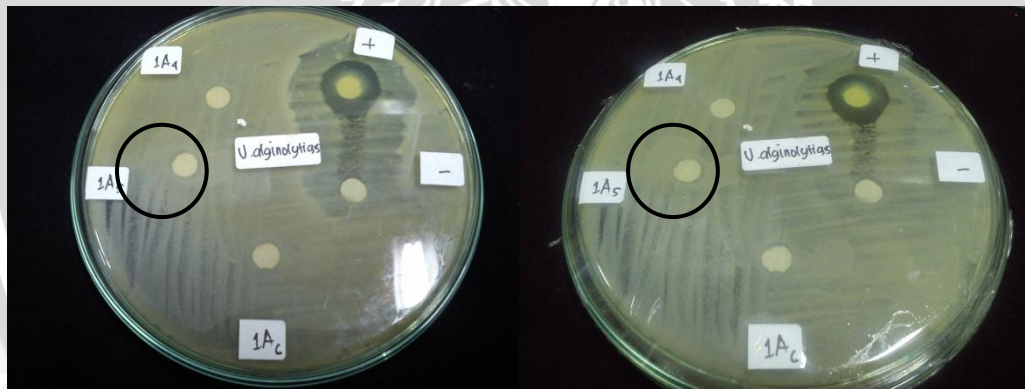
Terbentuknya zona bening menandakan bahwa bakteri tersebut kemungkinan mengandung antibiotik. Selain terbentuknya zona bening, kompetisi dianggap sebagai faktor yang sangat penting dalam pengendalian bakteri patogen, kompetisi zona bening terjadi ketika kedua organisme berada pada tempat yang sama dan menggunakan nutrisi yang sama (Schulz *et al.* 2006).

Perbedaan kemampuan antibakteri air dan sedimen terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* disebabkan karena perbedaan tingkat ketebalan struktur dinding sel. Pelczar dan Chan (2005) menyatakan *S. aureus* adalah bakteri gram positif yang berlapis tunggal sedangkan *V. alginolyticus* merupakan bakteri gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri dari 3 lapis. Struktur dinding sel bakteri *S. aureus* yang berlapis tunggal akan memudahkan masuknya zat-zat yang dapat merusak sel bakteri sedangkan sel bakteri *V. alginolyticus* terdiri dari 3 lapis yang memiliki membran luar sebagai penyaring molekul dan merupakan membran asimetrik yang terdiri dari lapisan fosfolipid, lipopolisakarida, lipoprotein dan protein sehingga molekul dari luar

tidak mudah masuk. Selain itu bakteri gram negatif juga memiliki endotoksin berupa polisakarida yang pada keadaan tertentu bersifat toksik yang mampu mengeluarkan molekul yang masuk ke dalam sel.

4.5. Sifat Antibakteri

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua jenis bentuk daerah hambatan yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri, yaitu zona bening dan zona hambat. Zona bening ditunjukkan dengan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram, sedangkan zona hambat ditunjukkan dengan adanya bakteri kandidat yang tumbuh di sekitar kertas cakram (Gambar 15). Menurut Luthana (2008) dalam Ummah (2010), zat-zat antibakteri dapat bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri).



Gambar 15. Perbedaan Bakteriosidal dan Bakteriostatik

Berdasarkan Tabel 8, isolat 1A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan peningkatan diameter zona bening pada 48 jam pengamatan. Begitu pula terhadap *Vibrio alginolyticus*, pada 24 jam pengamatan, isolat ini hanya mampu menghambat patogen, namun pada 48 jam pengamatan isolat ini menunjukkan adanya zona bening, ini menunjukkan bahwa isolat 1A₅ mempunyai sifat bakteriosidal. Artinya isolat tersebut benar-benar mampu membunuh bakteri patogen. Sifat yang sama juga ditunjukkan isolat 1S₅

terhadap *Staphylococcus aureus*, pada 24 jam pengamatan, isolat ini hanya mampu menghambat patogen, namun pada 48 jam pengamatan isolat ini menunjukkan adanya zona bening, sedangkan terhadap *Vibrio alginolyticus*, isolat ini menunjukkan peningkatan zona bening pada pengamatan 48 jam.

Sifat bakteriostatik ditunjukkan oleh isolat 2S₂ terhadap *Vibrio alginolyticus*, pada 24 jam maupun 48 jam pengamatan, isolat ini hanya mampu menghambat pertumbuhan patogen tanpa membentuk zona bening. Isolat 2S₅ terhadap *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan sifat yang sama, dimana isolat ini hanya mampu menghambat pertumbuhan patogen tanpa membentuk zona bening pada 24 jam maupun 48 jam pengamatan.

Isolat 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* dan isolat 3S₄ terhadap *Vibrio alginolyticus* menunjukkan sifat bakteriosidal, dimana keduanya tidak membentuk zona bening pada 24 jam pengamatan, namun pada 48 jam pengamatan keduanya menunjukkan zona bening pada masing-masing patogen.

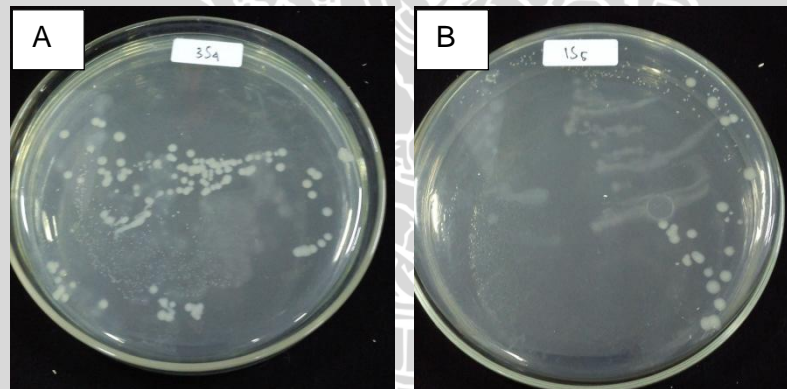
Perbedaan sifat antibakteri pada bakteri kandidat dapat disebabkan oleh sintesa ribosomal yang dilakukan bakteri kandidat sehingga menghasilkan senyawa protein yang memiliki kemampuan bakteriosidal atau bakteriostatik yang disebut dengan bakeriosin (Cleveland *et al.*, 2001).

4.6. Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

Isolat bakteri yang telah dipilih selanjutnya dilakukan indentifikasi mikroskopis (morfologi sel) dan morfologi koloni. Identifikasi mikroskopis atau morfologi sel dilakukan dengan pewarnaan gram, sehingga diketahui bentuk sel dan gram dari bakteri air dan sedimen. Bakteri gram positif akan berwarna ungu setelah ditetaskan dengan kristal violet dan mempertahankan warna ungu tersebut saat ditetaskan alkohol. Sementara bakteri gram negatif tidak mampu mempertahankan warna ungu setelah ditetaskan dengan alkohol dan akan

berwarna merah setelah ditetaskan safranin. Hal ini disebabkan karena perbedaan dinding sel pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif tersusun atas peptidoglikan dan asam teikoat. Sedangkan bakteri gram negatif dinding selnya tersusun dari peptidoglikan dan membran luar (Jawetz *et al.*, 2003).

Identifikasi koloni dengan pengamatan secara visual. Pengamatan koloni bakteri terdiri dari pengamatan bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elevasi dan warna koloni. Menurut Lisdayanti (2013), bentuk koloni dari bakteri yaitu bulat, titik, tidak teratur, akar dan berserabut, dan muralid. Bentuk dari elevasi koloni yaitu datar, membukit, cembung dan cekung. Bentuk dari tepi koloni yaitu berbelah, utuh, bergerigi, dan berombak. Hasil pengamatan morfologi koloni disajikan dalam Gambar 16.

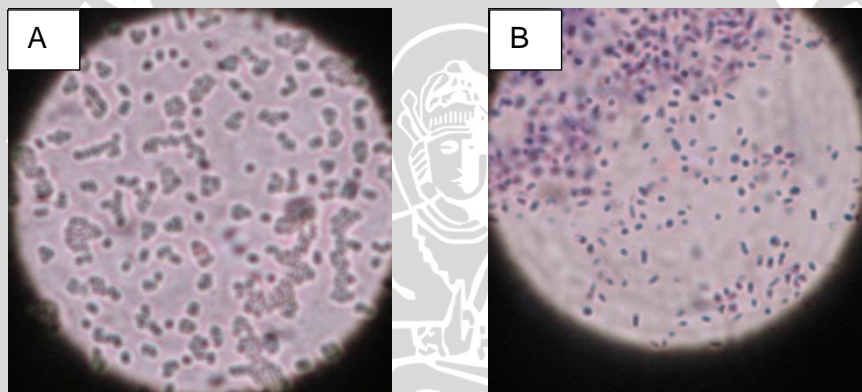


Gambar 16. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni pada a).1A₅ dan b).1S₅

Dari hasil identifikasi didapatkan keenam isolat mempunyai bentuk bulat dengan warna putih susu (Gambar 16) dengan hasil pewarnaan gram berwarna ungu (Gambar 17) yang termasuk ke dalam bakteri gram positif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tortora dan Derrickson(2006), dalam Lisdayanti (2013), menyebutkan bakteri Gram positif adalah bakteri yang memberi respon berwarna biru keunguan jika dilakukan uji pewarnaan Gram. Hasil identifikasi morfologi bakteri disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Morfologi

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Bentuk	Warna	Gram
1A ₅	Bulat	Utuh	Datar	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif
1S ₅	Bulat	Utuh	Datar	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif
2S ₂	Bulat	Utuh	Datar	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif
2S ₅	Bulat	Utuh	Datar	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif
3A ₅	Bulat	Utuh	Datar	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif
3S ₄	Bulat	Utuh	Melengkung	Putih susu	Kokus	Ungu	Positif



Gambar 17. Hasil Pewarnaan Gram Pada Isolat a). 1S₅ dan b). 3S₄

Trivedi *et al.* (2010) menyebutkan bahwa sifat bakteri gram positif memiliki jumlah peptidoglikan yang jauh lebih besar di dalam dinding sel daripada gram negatif. Dinding sel bakteri ini terdiri dari sekitar 40 – 80 % peptidoglikan dari berat kering dinding sel. Ketebalan dinding sel berukuran sekitar 30 – 80 nm. Pada umumnya dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis daripada gram positif. Bakteri gram negatif mengandung presentase lipid lebih tinggi dibandingkan bakteri gram positif.

5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa :

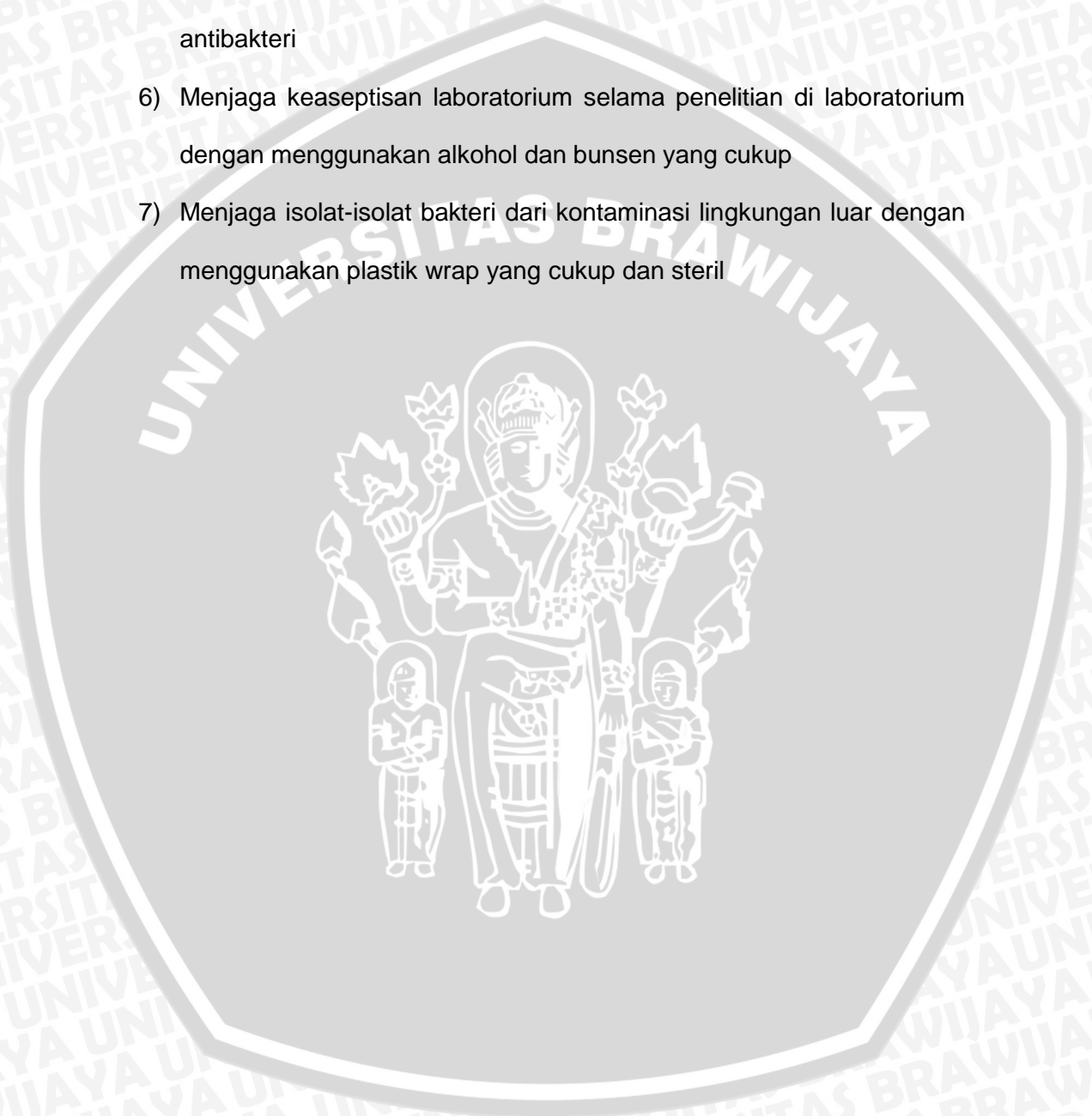
- 1) Bentuk morfologi koloni isolat bakteri air dan sedimen didapatkan bentuk koloni bulat, tepi utuh, elevasi dominan adalah rata dan warna putih susu. Bentuk sel isolat bakteri yang didapatkan adalah kokus. Bakteri air dan sedimen yang ditemukan termasuk ke dalam golongan bakteri gram positif (+)
- 2) Terdapat 6 isolat bakteri air dan sedimen dengan zona bening terbesar yaitu bakteri dengan kode isolat 1A₅, 1S₅, 2S₂, 2S₅, 3A₅, dan 3S₄. Zona bening terbesar diperoleh dari kode isolat 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 2,50 mm sedangkan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* yaitu isolat dengan kode 1S₅ sebesar 3,08 mm
- 3) Isolat 3A₅ terhadap *Staphylococcus aureus* dan 1S₅ terhadap *Vibrio alginolyticus* mempunyai sifat bakterisida namun masih tergolong lemah

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Pengukuran parameter lingkungan sebaiknya menggunakan alat dalam keadaan baik
- 2) Perhitungan koloni bakteri sebaiknya menggunakan metode lain seperti metode TPC (*Total Plate Count*)
- 3) Pemurnian bakteri sebaiknya menggunakan metode lain seperti metode gores kuadran untuk memastikan kemurnian bakteri

- 4) Uji aktivitas antibakteri sebaiknya menggunakan kontrol berupa media selektif dan media non-selektif
- 5) Pengamatan fase pertumbuhan bakteri sebaiknya dilakukan untuk mengetahui fase-fase bakteri kandidat pada saat uji aktivitas antibakteri
- 6) Menjaga keaseptisan laboratorium selama penelitian di laboratorium dengan menggunakan alkohol dan bunsen yang cukup
- 7) Menjaga isolat-isolat bakteri dari kontaminasi lingkungan luar dengan menggunakan plastik wrap yang cukup dan steril



DAFTAR PUSTAKA

- Allen, S.A. 2005. Factors Determining Distribution and Abundance of Pathogenic Bacteria with a Focus on *Vibrio* spp. Degree Project in Biology. Examenserbete Biology, 20 p, VT/HT 2005. Uppsala University.
- Arwiyanto, T.; Maryudani, Y.M.S., dan Prasetyo, A.E. 2007. Karakterisasi dan Uji Aktivitas *Bacillus* spp. sebagai Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. Berk. Penel. Hayati: 12 (93-98), 2007.
- Atlas, R.M. dan Bartha, R. 1993. Microbial Ecology : Fundamental and Applications. Addison-Wesley Publishing Company : Phlippines.
- Ayu, K.C. 2004. Studi Aktifitas Antioksidan dan Antibakteri Pada 10 Merk Teh Hijau yang Beredar Di Pasaran Kota Malang. Skripsi. Universitas Brawijaya Malang.
- Baskar, P.J. dan Kannan, S. 2009. Marine Bacteria As Probiotics to Control Pathogenic *Vibrio* on Infected Shrimp. ISSN : 0973-7464 Vol. XVI : No. 1 & 2 SB Academic Review 2009 : 77-85.
- Brooks, G.F.; J S. Butel, dan S.A. Morse. 2005. Medical Microbiology. McGraw Hill New York. 832.
- Buchanan, R. dan Gibbons, E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Inc. : USA.
- Cleveland, J.; Montville, T.J., Nes, I.F., dan Chikindas, M.L. 2001. Bacteriocins : Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. J. Food Microbiol.
- Dwidjoseputro. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan : Jakarta.
- _____ 2009. Mikrobiologi Lingkungan. UMM Press : Malang.
- Dwipayana dan Ariesyady, H.D. 2009. Identifikasi Keberagaman Bakteri pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat dengan Teknik Konvensional. Program Studi Teknil Lingkungan FTSL-ITB : Bandung.
- Fajriani, N. 2011. Polimorfisme Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus Fuscoguttatus Forsskål*) Yang Tahan Bakteri *Vibrio Alginolyticus* Dan Toleran Salinitas Rendah Serta Salinitas Tinggi. Skripsi. Universitas Hassanudin Makassar.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian. IPB Press : Bogor.
- Gross, A.G. 1990. The Rhetoric of Science. Harvard University Press: Cambridge Massachusetts.

- Herd, T.; Crowlker, J.S., dan Cox, L.J. 2001. Keamanan Pangan Untuk Ahli Gizi. Ringkasan Penyakit yang Ditularkan Makanan. I CD-SEAMEO-GT2-WHO.
- Hidayat, N.; Masdiana, C.P., dan Sri, S. 2006. Mikrobiologi Industri. ANDI : Yogyakarta.
- Hikmat. 2015. Proses Pertumbuhan Bakteri. <http://www.kliksma.com/2015/03/proses-pertumbuhan-bakteri.html>. Diakses pada tanggal 16 Juni 2015 pukul 10:24 WIB.
- Irianto, K. 2006. Mikrobiologi : Menguak Dunia Mikroorganisme. Jilid 1. Yrama Widya : Bandung.
- Jawetz, E.; Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A. 2003. Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika : Jakarta.
- Johnny, F.; Prisdimminggo, dan Roza, D. 2002. Kasus Penyakit Infeksi Bakteri Pada Ikan Kerapu Di 2 Karamba Jaring Apung Teluk Ekas, Desa Batunampar, Lombok Timur, NTB. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol Bali.
- Jumiarni, D. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Sedimen Waduk. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Bengkulu.
- Karlina, I. 2009. Identifikasi Mikroba Air Laut di Ujung Grenggengan Semenanjung Muria. Pusat Teknologi Reaktor dan Keselamatan Nuklir – BATAN. Sigma Epsilon ISSN 0853 – 9103 Vol. 13 No.2 Mei 2009.
- Kusmarwati, A. dan Indriati, N. 2008. Daya Hambat Ekstrak Bahan Aktif Biji Picung (*Pangium edule*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil istamin. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 3 No. 1, Juni 2008.
- Leavitt, J.M.; Naidorf, I.J., dan Shugaevsky, P. 1955. The Undetected Anaerobe in Endodontics: A Sensitive Medium for Detection of Both Aerobes and Anaerobes. The NY J. Dentist. 25:377-382.
- Lehninger. 1997. Dasar-dasar Biokimia. Terjemahan Suhartono, M.T. Penerbit Erlangga : Jakarta.
- Lidayanti, E. 2013. Potensi Antibakteri dari Bakteri Asosiasi Lamun (*Seagrass*) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hassanudin Makassar.
- Madigan, M.T.; Martinko, J.M., dan Parker J. 2003. Biology of Microorganisms (edisi ke-9). Pearson Education, Inc. : USA.
- Melki; Wike, A.E., dan Kurniati. 2010. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria* sp. (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Sriwijaya Indralaya.

- Menteri Negara Lingkungan Hidup. 2004. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 51 tentang Baku Mutu Air Laut untuk Kehidupan Biota Laut.
- Pambayun, R.; Gardjito, M., Sudarmadji, S., dan Rahayu, K.K. 2008. Sensitivitas Bakteri Gram Positif terhadap Katekin yang Diekstraksi dari Gambir (*Uncaria gambir*). *Agritech*, Vol. 28, No. 4 November 2008.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2 . Hadioetomo, R.S., Imas, T, Tjitrosomo, S.S., Angka, S.L. Penerjemah : Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: Elements of Microbiology.
- Prastowo, A. 2010. Memahami Metode-Metode Penelitian. Ar-Ruzz Media : Yogyakarta.
- Purnobasuki, H. 2011. Struktur Sel Bakteri. SKP Unair : Surabaya.
- Purnomo, B. 2008. Materi Kuliah Mikrobiologi. Faperta UNIB : Bengkulu.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian 1* : 113-126.
- _____. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. EGC : Jakarta.
- Rao, K. V. R.; Kumar, K.S., Rao, D.B., dan Rao, T. R. 2012. Isolation and Characterization of Antagonistic Actinobacteria from Mangrove Soil. *J Biochem Tech* (2012) 3(3):361-365 ISSN 0974-2328
- Ravikumar, S.; Thajuddin, N.N., Suganthi, P., Jacob, S., dan Vinodkumar, T. 2010. Biactive Potensial of Seagrass bacteria against Human Bacterial Pathogens. *Journal of Environmental Biology*. 387-389
- Rinawati, N. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Sahoo, K. dan Dhal, N.K. 2008. Potential Microbial Diversity in Mangrove Ecosystem : A review. *Indian Journal of Marine Science*. Vol. 38 (2), p. 249-256.
- Salle, A.J. 1943. Fundamental Principles of Bacteriology. McGraw Hill Book Company Inc. : New York and London.
- Schlegel, G.H. 1993. General Microbiology. Cambridge University Press : England.
- Schulz, B.J.E.; Boyle, C.J.C., dan Sieber, T.N. (Eds.). 2006. What are Endophytes?. *Microbial Roots Endophytes*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Sidharta, B.R. 2000. Pengantar Mikrobiologi Kelautan. Universitas Atma Jaya Yogyakarta : Yogyakarta.

- Smith, A.J.; Jackson, M.S., dan Bagg, J. 2011. The Ecology of *Staphylococcus* Species in the Oral Cavity. J Med Microbol. 2011 : 50 (11) : p. 940-6.
- Sumarsih, S. 2003. Diktat Kuliah Mirobiologi Dasar. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN "Veteran" : Yogyakarta.
- Surakhmad, W. 1985. Pengantar Penelitian Ilmiah. Penerbit Tarsito : Bandung.
- Suriawiria, U. 2003. Mikrobiologi Air. PT. Alumni : Bandung.
- Tenover, F.C. 2006. Mechanism of Antimicrobial Resistance in Bacteria. The American Journal of Medicine. Vol. 119 (6A), pp S3-S10
- Trivedi, P.C.; Pandey, S., dan Bhadauria, S. 2010. Text Book of Microbiology. Aavishkar Publishers : India.
- Ummah, M.K. 2010. Ekstraksi Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Skripsi. Universitas Negeri Malang
- Uno, W.D.; Retnowati, Y., dan Kandowanko, N. 2012. Biodiversitas *Actinomycetes* pada Kawasan Mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang dan Uji Potensi sebagai Penghasil Antibiotika. Laporan Penelitian I-MHERE Universitas Negeri Gorontalo.
- Wahyuni, E.A. 2012. Studi Pendahuluan Kandungan Bakteri dalam Air Laut di Perairan Selat Madura. Seminar Tahunan ke II Hasil-hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang.
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. UMM Press : Malang.
- _____ 2009. Mikrobiologi Lingkungan. UMM Press : Malang.
- Whipps, J. M. 1987. Effect of Media on Growth and Interactions Between a Range of Soil-Borne Glasshouse Pathogens and Antagonistic Fungi. New Phytologi. 10 (1) : 127-142.
- Xiaoqing, Y. 2003. Manual on Sediment Management and Measurement. World Meteorological Organization Operational Hidrology Report No. 47. Geneva Switzerland Secretariat of the World Meteorological Organization.

LAMPIRAN

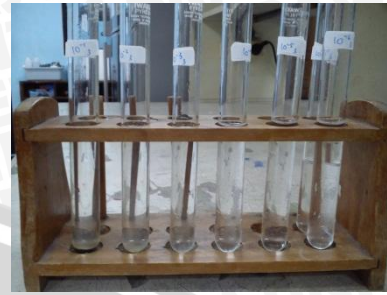
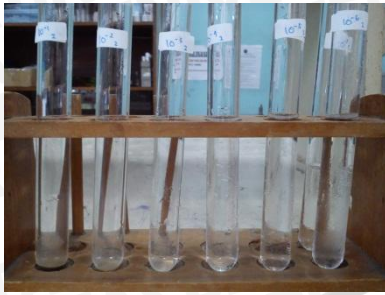
Lampiran 1. Pengambilan Sampel Lapang



Lampiran 2. Persiapan Alat dan Bahan dan Sterilisasi



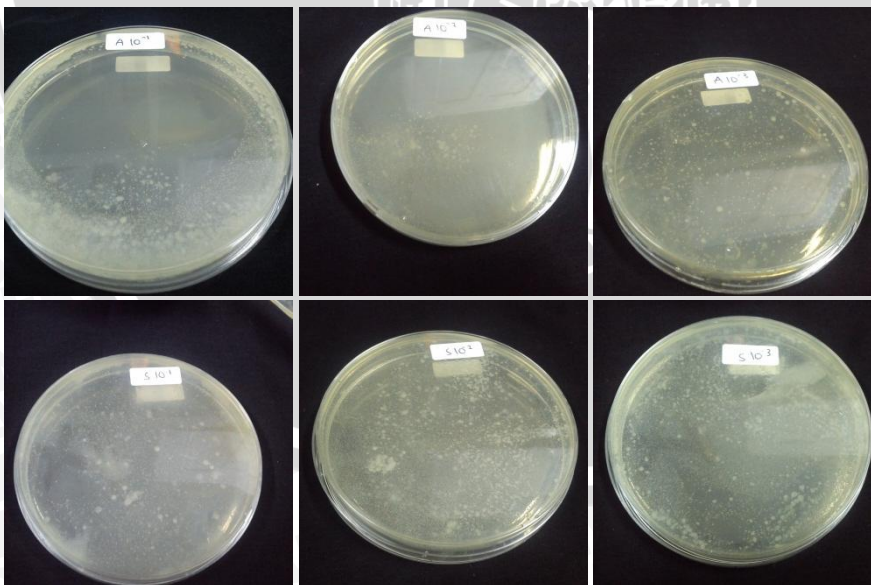
Lampiran 3. Pengenceran Bertingkat



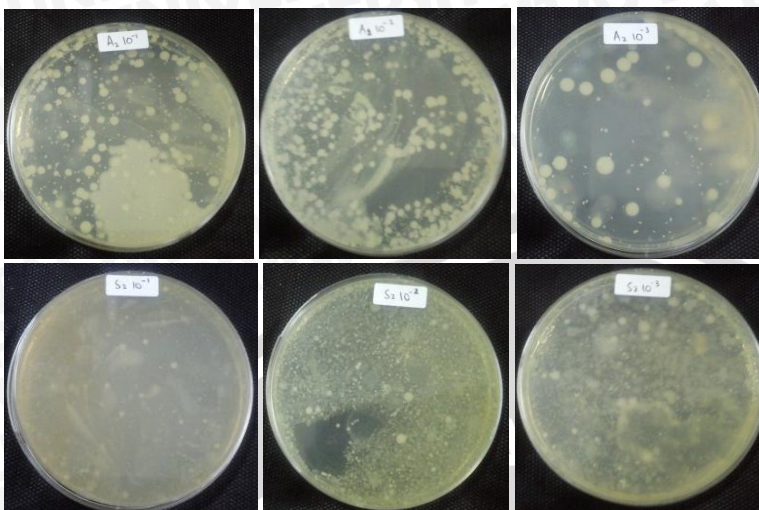
Lampiran 4. Penanaman Sampel



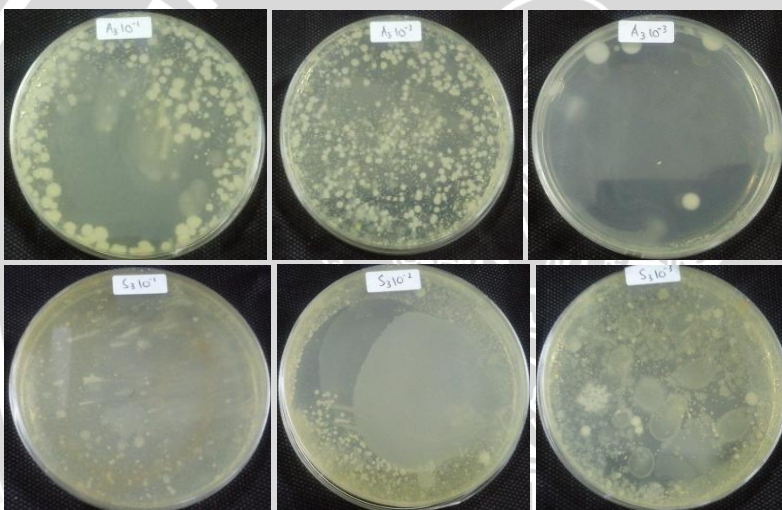
Lampiran 5. Hasil Penanaman 1



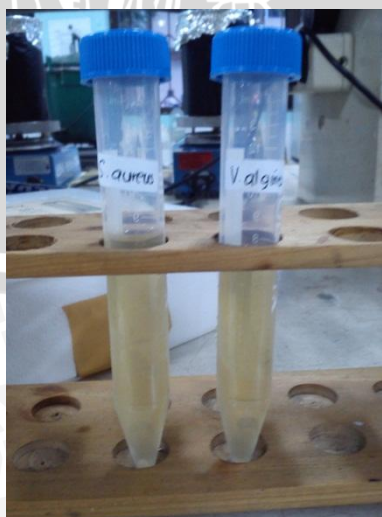
Lampiran 6. Hasil Penanaman 2

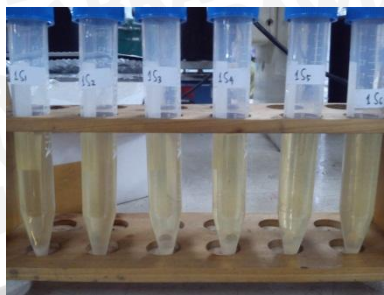


Lampiran 7. Hasil Penanaman 3

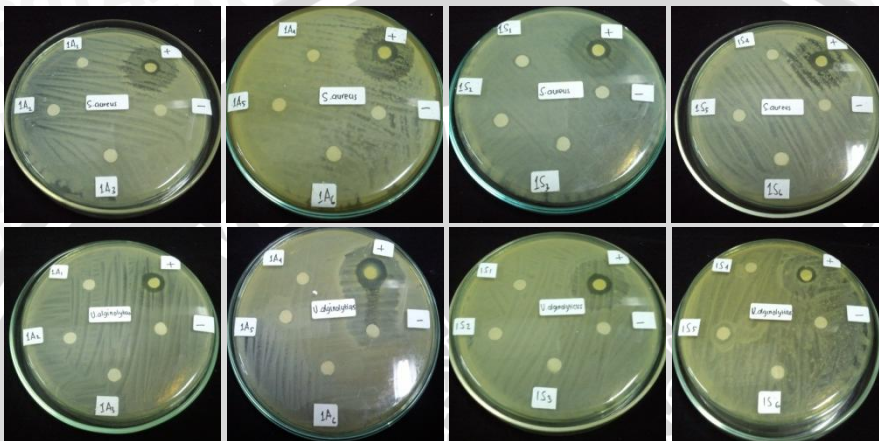


Lampiran 8. Pembuatan Stok Bakteri Patogen dan Bakteri Kandidat

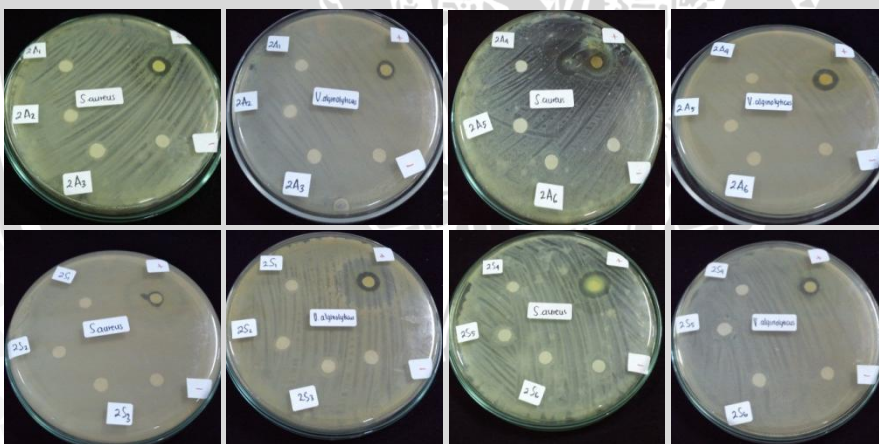




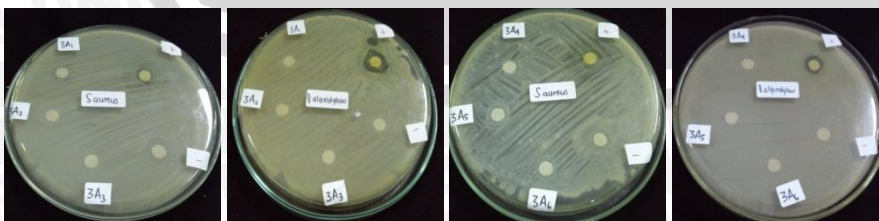
Lampiran 9. Uji Aktivitas Antibakteri 1

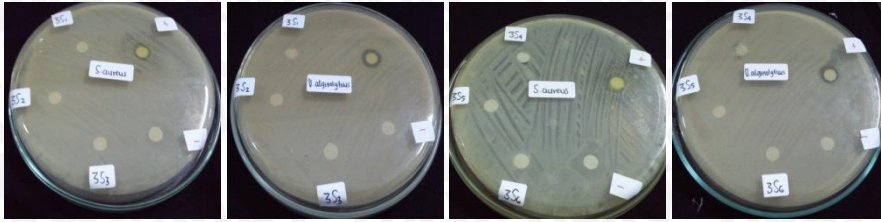


Lampiran 10. Uji Aktivitas Antibakteri 2

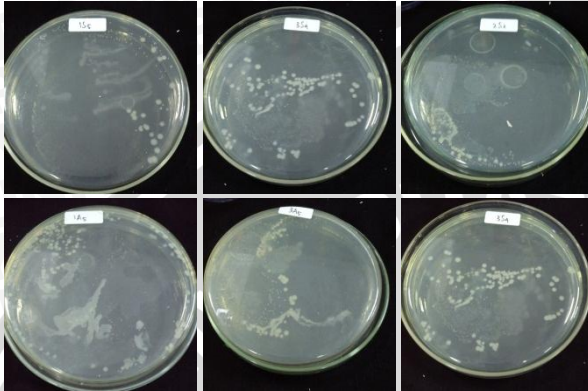


Lampiran 11. Uji Aktivitas Antibakteri 3

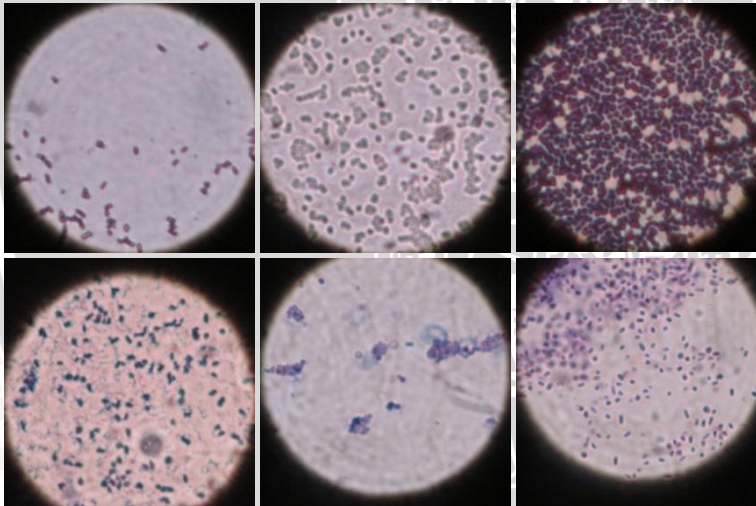




Lampiran 12. Pemurnian



Lampiran 13. Pewarnaan Gram



BRAWIJAYA

