

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION GASTROPODA
(*Terebralia sulcata*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Vibrio
alginolyticus***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN

JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

Oleh:

ERI SAHABUDIN

NIM.115080601111025



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION GASTROPODA
(*Terebralia sulcata*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Vibrio
alginolyticus***

Oleh:

Eri Sahabudin

NIM. 115080601111025

Telah dipertahankan Didepan penguji

Pada tanggal 3 Juli 2015

Dan Dinyatakan Memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 1

Dosen Penguji 1

(Ade Yamindago. S.Kel., MP., M.Sc.) (Andi Kurniawan S.Pi., M.Eng., D.Sc)

NIP. 19840521 200801 1 002

NIP. 19790331 200501 1 003

Tanggal :

Dosen Pembimbing 2

Dosen Penguji 1

(Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D.) Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel M.Sc

NIP. 19740812 200312 2 001

NIK. 20134609252001

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan PSPK

(Dr.Ir. Daduk Setyohadi, MP)

NIP. 19630608 198703 1 003]

Tanggal :

PERNYATAAN ORSINALITAS

Laporan hasil penelitian yang telah tersusun ini, merupakan hasil karya saya sendiri. Beberapa literature pendukung sebagai acuan pelaksanaan penelitian yang saya cantumkan telah saya paraphrase sedemikian rupa sehingga tidak terdapat atau pendapat yang telah diterbitkan oleh orang lain, melainkan semua yang tertulis dalam laporan ini telah tertulis dalam daftar pustaka.

Pernyataan orsinalitas ini dapat dipertanggung jawabkan. Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan laporan hasil penelitian ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sangsi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia



Malang, 3 Juli 2015

Eri Sahabudin
NIM. 115080601111025

RINGKASAN

Eri Sahabudin. Aktvfitas Antibakteri Dari Bakteri Endosimbion Gastropoda (*Terebralia sulcata*) terhadap *Staphylococcus aureus* DAN *Vibrio alginolyticus* (Pembimbing 1: Ade Yamindago S.Kel., M.Si., M.Sc. Pembimbing2: Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D)

Meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai antibakteri yang telah ada harus diimbangi dengan penemuan senyawa aktif baru. Gastropoda (*Terebralia sulcata*) merupakan salah satu komoditi perikanan, namun dalam hal pemanfaatannya khususnya dalam pengembangan senyawa aktif, gastropoda masih sedikit dilakukan. Sumarto, *et al.* (2011), menyebutkan bahwa pada gastropoda (*Terebralia sulcata*) terdapat senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat, yaitu jenis flavonoid, saponin, dan alkaloid. Dengan adanya senyawa aktif pada *Terebrallia sulcata* maka diduga bakteri yang bersimbiosis dengan *Terebrallia sulcata* akan mensintesis senyawa yang sama, sehingga bakteri simbiannya memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa aktif untuk pengembangan *Marine natural Products*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari endosimbion *Terebrallia sulcata* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. Menegtahui sifat senyawa antibakteri endosimbion dari *Terebrallia sulcata*, serta mengetahui identifikasi morfologi bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata*. Sampel gastropoda *Terebralia sulcata* diambil dari Pantai Clungup Kabupaten Malang. Bagian *Terebralia sulcata* yang digunakan yaitu insang dan usus. Gastropoda merupakan hewan *filter feeder* sehingga diduga akan banyak terkandung bakteri endosimbion di bagian insang yang berasal dari lingkungan, sedangkan usus merupakan pusat pencernaan dari gastropoda dan diduga bakteri simbion yang diturunkan secara vertikal dari induknya terdapat pada bagian usus.

Tahapan penelitian dimulai dari pengambilan sampel gastropoda, isolasi, dan pembuatan stok bakteri. Tahap penanaman bakteri endosimbion sampai isolasi dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya dilakukan uji potensi anti bakteri dengan metode cakram, bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. Isolat yang memeiliki zona bening terbesar pada waktu pengamatan 48 jam dipilih sebanyak 2 isolat, selanjutnya isolat yang dipilih diidentifikasi morfologi sel dan morfologi koloninya.

Hasil penelitian menunjukkan, dari 36 isolat yang didapatkan dari 3 kali penanaman diperoleh 15 isolat mampu membunuh bakteri patogen hal ini terlihat dari terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram, dengan zona bening terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*. Sementara 21 isolat hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sehingga bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* lebih berpotensi sebagai senyawa antibakteri yang bersifat bakteriostatik. Hasil identifikasi sel 6 isolat bakteri endosimbion yang dipilih, didapatkan hasil 4 isolat berbentuk bulat dan 2 isolat berbentuk batang, 2 isolat merupakan gram negatif dan 4 isolat gram positif. Sementara bentuk morfologinya koloninya sebagian besar berbentuk bulat, dengan elevasi datar dan warna putih susu.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada ALLAH SWT atas semua nikmat iman dan islam yang dikaruniakan sehingga saya bisa menempuh pendidikan sampai di kota malang ini, dan juga penelitian ini berhasil diselesaikan sesuai dengan harapan. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan ke junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Penelitian yang dilakukan sejak maret 2015 ini merupakan Uji potensi anti bakteri dari bakteri endosimbion pada gastropoda *Terebralia Sulcata* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. *Terebralia sulcata* diketahui memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai anti bakteri. Disisilain gastropoda memiliki asosiasi dengan bakteri dimana bakteri mampu mensintesis senyawa yang sama dengan inangnya sehingga perlu diteliti bakteri yang bersimbiosis dengan gastropoda spesies *Terebralia sulcata*. Semoga sedikit pemaparan ilmiah hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan dunia kelautan.

Malang, 3 Juli 2015

Eri Sahabudin

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini tidak akan dapat terlaksana dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis sangat berterimakasih kepada :

- ❖ ALLAH SWT. Sang Pemilik ilmu, Yang telah menyinari hidayah kedalam hidup saya hingga bisa terpetik hikmah dalam setiap langkah ini.
- ❖ Ibu saya Inak Mursan, ayah saya Amak Mursan dan semua Kakak saya, khususnya Nuraeni atas doa, restu, dan dukungannya sehingga saya bisa menempuh pendidikan dan menuntut Ilmu sampai di luar daerah.
- ❖ Ade Yamindago S.Kel., M.Si., M.Sc dan Feni Iranawati, S.Pi., M.Pi., Ph.D. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan Ilmu serta bimbingan dalam menyelesaikan studi dan penelitian ini sehingga bisa berjalan dengan sangat baik.
- ❖ Andi Kurniawan S.Pi., M.Eng., D.Sc dan Rarasrum Dyah Kasitowati, M.Sc selaku penguji, atas saran dan masukan agar penelitian ini menjadi lebih baik.
- ❖ Dr. Uun Yanuar yang telah memberikan motivasi dan semangat selama proses study dikota Malang.
- ❖ Kanda, ayunda, dan adinda keluarga besar Himpunan Mahasiswa Islam untuk pelajaran Nilai Dasar Perjuangan (NDP) yang memberi arti sebah perjuangan.
- ❖ Segenap tim biotek kelutan 2011, Lilik Arti Wahyuni, Dwias Wuri M., dan Ria Utari yang saling mendukung satu sama lain untuk melaksanakan dan menyelesaikan penelitian ini.

Semua pihak yang turut membantu peenelitian dan penulisan laporan yang tidak memungkinkan untuk dituliskan satu per satu

DAFTAR ISI

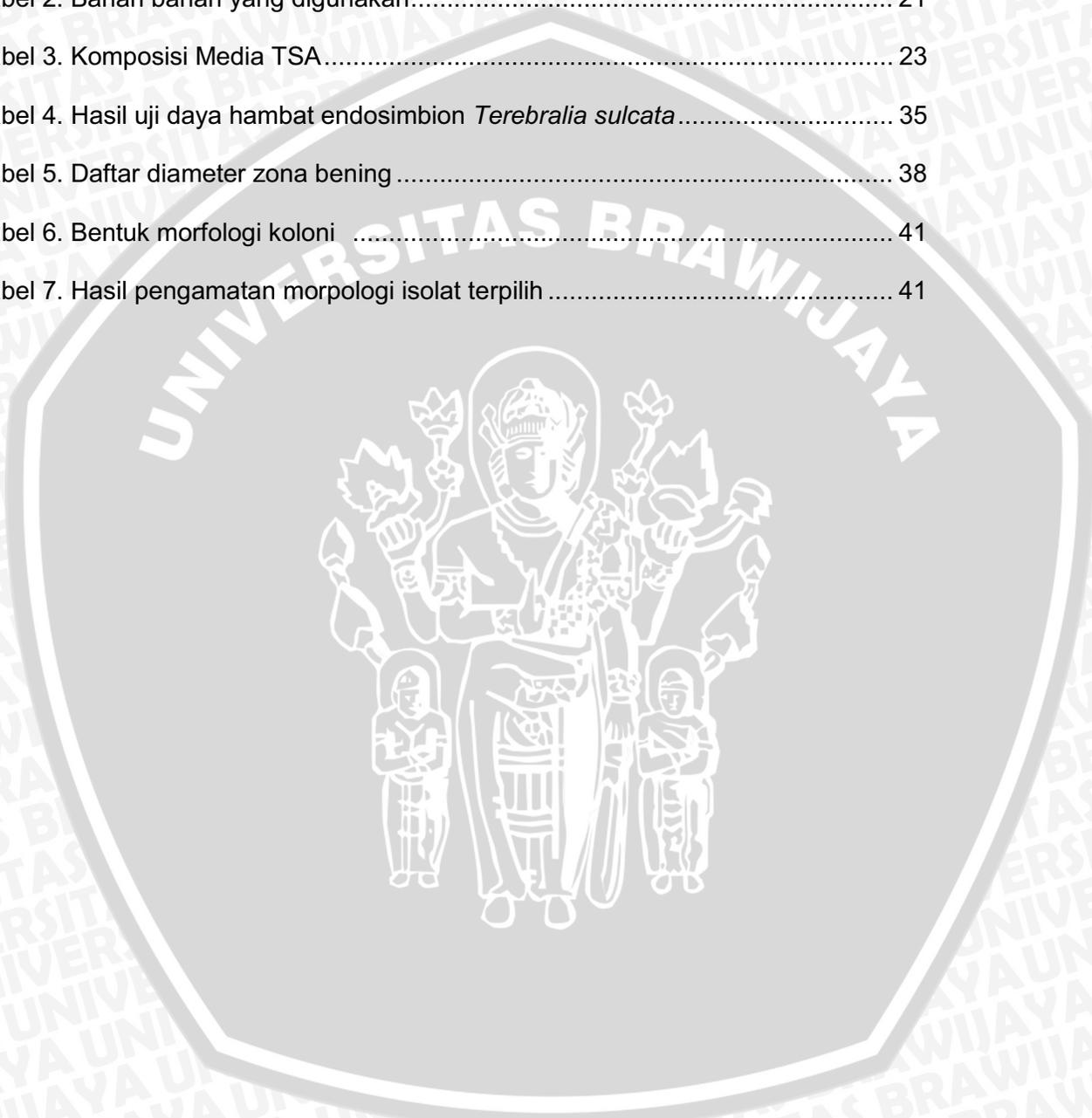
PERNYATAAN ORSINALITAS	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi <i>Terebralia sulcata</i>	5
2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Habitat	5
2.1.3 Taksonomi	6
2.2 Bakteri	6
2.2.1. Morfologi Bakteri	6
2.2.2. Struktur Bakteri dan Fungsinya	7
2.2.3 Fase Dan Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	8
2.2.4. Bakteri Laut	9
2.2.5. Interaksi Endosimbion Dengan Inangnya	9
2.2.6 Cara Endosimbion Hadir Dalam Hewan Laut	11
2.2.7 Bakteri Patogen	11
2.3 Media Kultur	14
2.4 Antibakteri	14
2.5 Uji Antibakteri	14

2.6 Hasil Penelitian Terdahulu.....	17
3. METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.2 Prosedur Penelitian.....	19
3.2.1 Koleksi Sampel.....	20
3.2.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	22
3.2.4 Pembuatan Media.....	23
3.2.5 Isolasi.....	25
3.2.6 Pembuatan Stok Bakteri Endosimbion.....	27
3.2.7 Peremajaan Bakteri Patogen.....	28
3.2.8 Pembuatan Larutan Stok Bakteri Patogen.....	28
3.2.9 Uji Aktivitas Antibakteri.....	29
3.2.10 Pewarnaan Gram.....	30
3.2.11 Purifikasi dan Identifikasi Koloni.....	31
3.3 Analisis Data.....	31
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Isolasi Bakteri.....	32
4.2 Uji Antibakteri.....	33
4.3 Sifat Antibakteri Endosimbion <i>Terebralia sulcata</i>	36
4.4 Karakter Morfologi Bakteri Endosimbion <i>Terebralia sulcata</i>	40
5. PENUTUP.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTKA.....	45
LAMPIRAN.....	49



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	20
Tabel 2. Bahan bahan yang digunakan.....	21
Tabel 3. Komposisi Media TSA.....	23
Tabel 4. Hasil uji daya hambat endosimbion <i>Terebralia sulcata</i>	35
Tabel 5. Daftar diameter zona bening.....	38
Tabel 6. Bentuk morfologi koloni.....	41
Tabel 7. Hasil pengamatan morfologi isolat terpilih.....	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. *Terebralia sulcata*..... 5

Gambar 2. Perbedaan sususunan sel bakteri gram positif dan negatif..... 8

Gambar 3. Bentuk Sel Bakteri *Staphylococcus aureus* 10

Gambar 4. Bentuk Sel Bakteri *Vibrio alginolyticus* 13

Gambar 5. Lokasi pengambilan sampel..... 18

Gambar 6. Diagram alir penelitian..... 19

Gambar 7. Cara menggerakkan media 24

Gambar 8. Cara menggores secara zigzag..... 27

Gambar 9. Desain uji cakram pada cawan petri..... 29

Gambar 10. Hasil penanaman 32

Gambar 11. Hasil isolasi ke agar miring..... 32

Gambar 12. Hasil uji daya hambat penanaman pertama 33

Gambar 13. Diameter zona bening penanaman kedua..... 34

Gambar 14. Diameter zona bening penanaman kedua..... 34

Gambar 15. Sifat antibakteri bakteriostatik 36

Gambar 16. Perbandingan zona hambat endosimbion 39

Gambar 17. Hasil Pewarnaan gram 42

Gambar 18. Bentuk morfologi koloni endosimbion 43



DAFTAR LAMPIRAN

1. Perhitungan Media TSA	49
2. Dokumentasi	50
a. Pengambilan Sampel	50
b. Pengukuran Sampel <i>Terebralia sulcata</i>	50
c. Pemisahan Cangkang dan Daging	50
d. Sterilisasi	50
e. Penanaman	50
f. Uji Daya Hambat	51
h. Pewarnaan Gram dan Pengamatan dengan Mikroskop	51
j. Hasil Penanaman	52
k. Hasil Uji Daya Hambat	52
l. Hasil Pewarnaan Gram	53



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kelautan yang memiliki potensi besar untuk mengembangkan senyawa bioaktif dari laut, akan tetapi pengembangan senyawa bioaktif di Indonesia masih dalam tahap pemulaan. Senyawa bioaktif laut atau produk alami laut ((*Marine Natural Products* (MNPs)) adalah senyawa organik yang diproduksi oleh mikroba, spons, seaweeds, dan organisme laut lain. Organisme inang mensintesis senyawa ini sebagai metabolit sekunder untuk melindungi dirinya dan menjaga keseimbangan lingkungan (Mahdiyah *et al.*, 2012). Meningkatnya jumlah bakteri yang resisten terhadap berbagai antibakteri yang telah ada harus diimbangi dengan penemuan baru. Hal ini mendorong untuk ditemukannya produk alternatif yang lebih baik, murah, memiliki efek samping yang kecil, dan tersedia secara berkelanjutan dalam jumlah yang besar sehingga bakteri resisten bisa diatasi (Melviani, 2010).

Keberadaan bakteri yang bersimbiosis dengan moluska laut memungkinkan penggunaan mikro-organisme sebagai sumber senyawa bioaktif yang baru, termasuk senyawa antibakteri, khususnya dalam menangani strain-strain yang resisten terutama *multi-drugs resistant* (MDR). Bakteri MDR merupakan bakteri yang telah kebal terhadap berbagai antibakteri. Hal ini disebabkan penggunaan antibakteri yang tidak rasional atau bijaksana, sehingga antibakteri yang telah ada perlu diganti dengan antibiotik baru yang lebih efektif dan efisien dalam mengatasi bakteri yang telah resisten.

Bakteri endosimbion merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan organisme lain yang berperan sebagai inangnya (Pringgenies, 2009). Menurut Wantman (1999)

dalam Pringgenies (2009) bakteri endosimbion mampu menghasilkan senyawa aktif yang sama dengan metabolit sekunder inangnya sehingga memungkinkan penggunaan bakteri endosimbion sebagai pengganti inangnya dalam pengembangan senyawa aktif. Bakteri endosimbion tidak hanya terdapat pada gastropoda jenis *Terebralia sulcata* saja, tetapi juga terdapat pada organisme laut lainnya seperti spons, *Stramonita armigera* dan *Conus miles*. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari bakteri yang bersimbiosis dengan organisme laut.

Pringgenies (2009) telah mengisolasi bakteri yang bersimbiosis dengan gastropoda jenis *Conus miles*. Pringgenies (2010) kembali berhasil mengisolasi bakteri simbiosis dari Gastropoda jenis *Stramonita armigera* untuk pengembangan antibakteri. Mahdiyah (2012), mengisolasi bakteri penghasil enzim protease yang bersimbiosis dengan spons jenis *Jaspis* sp. Wulandari (2011) mengisolasi bakteri yang memiliki potensi antibakteri dari jenis *Vibrio* sp. yang bersimbiosis dengan Sponge *Haliclona* sp. Dan *Geodia* sp .

Terebralia sulcata merupakan organisme laut yang memiliki cangkang yang keras yang berbentuk terompet dan runcing dibagian ekor. Pemanfaatan *Terebralia sulcata* masih sangat sedikit. Masyarakat Riau memanfaatkannya sebagai bahan pangan untuk dan mengobati berbagai penyakit infeksi, seperti luka bakar, sakit gigi, obat penyakit TB (Tuberkulosis) dan infeksi usus buntu (Ali, 2006 dalam Sumarto, 2011).

Sumarto *et al.* (2011), meneliti kandungan senyawa aktif pada daging *Terebralia sulcata* dan menyebutkan bahwa pada gastropoda (*Terebralia sulcata*) terdapat senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat diantaranya yaitu jenis flavonoid, saponin, dan alkaloid. Ali *et al.* (2007), melakukan uji potensi antibakteri

dari ekstrak *Terebralia sulcata* dan menunjukkan bahwa daging *Terebralia sulcata* berpotensi sebagai senyawa antibakteri.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. *Staphylococcus aureus* patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, dan membentuk koagulasi. *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit seperti bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. *Staphylococcus aureus* juga menyebabkan Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik. *S. aureus* merupakan bakteri resisten terhadap berbagai antibakteri, sehingga perlu antibakteri berspektrum lebih luas (Ryan *et al.*, 1994 dalam Kusuma, 2009).

Vibrio alginolyticus adalah bakteri gram negatif yang memiliki habitat alami di daerah muara, pesisir, dan laut. Bakteri ini mampu membawa gen patogen trh (menyerang kekebalan tubuh) yang merupakan ancaman bagi kesehatan masyarakat. *V. alginolyticus* menginfeksi manusia melalui makanan dan minuman (Mustapha *et al.*, 2013).

Seiring dengan berkembangnya penyakit maka kebutuhan akan senyawa aktif akan terus meningkat akan tetapi pemanfaatan senyawa aktif yang diambil secara langsung dari gastropoda akan mengancam ketersediaannya di alam. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain yaitu dengan dengan mengisolasi bakteri yang bersimbiosis dengan organisme tersebut seperti bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata*. Dengan adanya senyawa aktif pada *Terebralia sulcata* maka diduga bakteri

yang bersimbion dengan *Terebralia sulcata* juga akan mensintesis senyawa yang sama sehingga bakteri endosimbion tersebut memiliki potensi antibakteri, khususnya untuk *S. aureus* dan *V. Algonoliticus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata* memiliki aktivitas antibakteri
2. Bagaimana sifat antibakteri endosimbion *Terebralia sulcata*
3. Bagaimana indentifikasi bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata*

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui :

1. Aktivitas antibakteri endosimbion dari *Terebrallia sulcata* terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *V. alginolyticus*.
2. Sifat senyawa antibakteri endosimbion dari *Terebrallia sulcata*
3. Mengetahui identifikasi morfologi bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata*

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Sebagai dasar pengembangan *Marine Natural Product* dalam pengembangan senyawa aktif.
2. Memberikan informasi tentang bakteri endosimbion pada gastropoda *Terebralia sulcata*.

2. TINJAUAN PUSTAKA

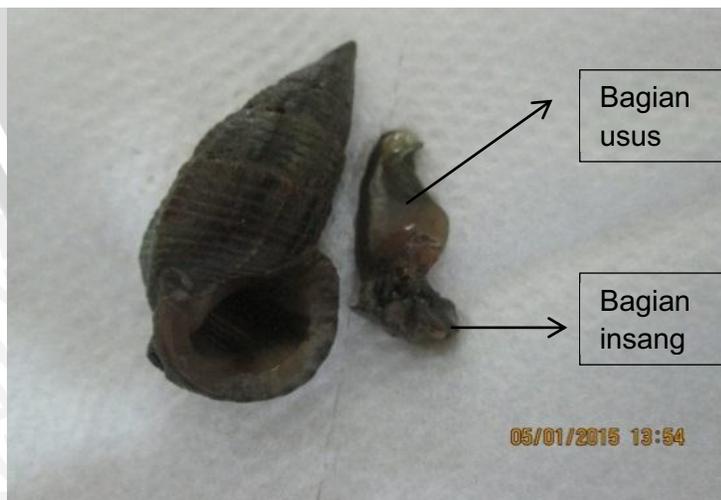
2.1 Biologi *Terebralia sulcata*

2.1.1 Morfologi

Terebralia sulcata dikenal dengan hewan yang memiliki cangkang asimetris yang keras yang berbentuk terompet (*single coiled shell*) dan runcing dibagian ekor. (Sumarto, 2011). *Terebralia sulcata* memiliki panjang maksimum 19 cm dan umumnya 12 cm dengan warna yang gelap (Gambar 1). *Terebralia sulata* bernapas menggunakan insang dan merupakan hewan herbivora (Houbrick, 1991).

2.1.2 Habitat

Terebralia sulcata hidup di daerah pasang surut pada estuari atau mangrove. *Terebralia sulcata* memiliki penyebaran yang cukup luas mulai dari Indo-Barat, Pasifik, dari Afrika Timur termasuk Madagaskar dan Laut Merah sampai ke Melanesia, di wilayah utara tersebar di Filipina dan di daerah selatan di Queensland Selatan dan Kaledonia (Houbrick, 1991).



Gambar 1. *Terebralia sulcata* (doc. Penelitian)

2.1.3 Taksonomi

Menurut Bron (1778) dalam marinespecies (20115), taksonomi dari *Terebralia sulcata* dapat dilihat sebagai berikut:

Kingdom: Animalia

Phylum: Mollusca

Class: Gastropoda

Subclass: Caenogastropoda

Family: Potamididae

Genus: *Terebralia*

Spesies: - *Terebralia sulcata*

2.2 Bakteri

Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air dan tanah. Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal tidak terlihat oleh mata, berukuran antara 0,5 – 1,0 μm dan lebar 0,5–2,5 μm tergantung pada jenisnya. Secara umum bentuk dari bakteri yang sering ditemukan diantaranya bulat, batang, spiral, koma atau vibrios (Buckle *et al.*, 1987) dalam (Lisdayanti, 2013).

2.2.1. Morfologi Bakteri

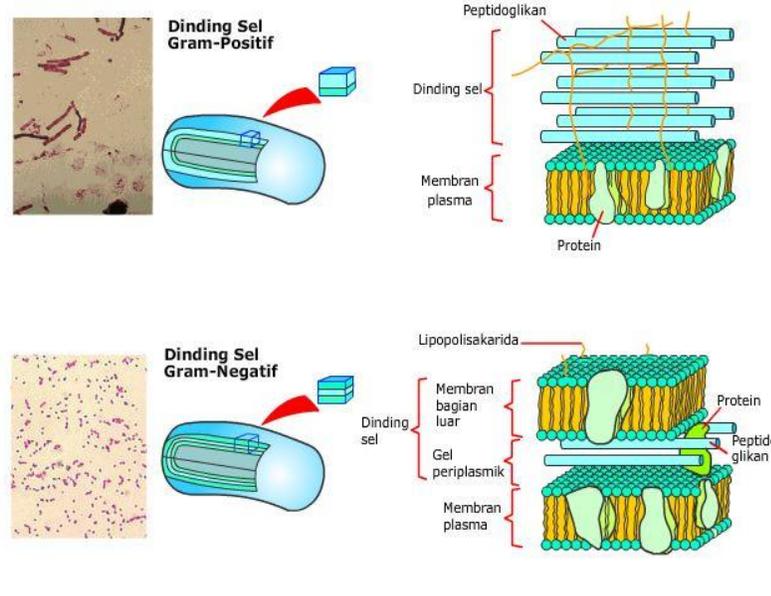
Pada umumnya ukuran tubuh bakteri sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri baru dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, bersifat uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Bentuk dasar dari bakteri terdiri dari

bentuk bulat (kokus), batang (basil), dan spiral (spirilia) serta terdapat bentuk antara kokus dan basil yang disebut kokobasil (Sularso, 2013).

2.2.2. Struktur Bakteri dan Fungsinya

Menurut Fardiaz (1989) dalam Wulandari (2011), bakteri dikenal menjadi dua berdasarkan susunan selnya, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel 90% terdiri dari lapisan peptidoglikan, sedangkan lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat. Karena bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal, maka bakteri ini lebih sensitif terhadap antibakteri dibandingkan bakteri gram negatif.

Bakteri gram positif dinding selnya mengandung lipid yang lebih normal (1-4%), peptidoglikan ada yang sebagai lapisan tunggal. Bersifat lebih rentan terhadap antibakteri. Bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel. Lapisan terluar, lipoposakarida (lipid) dan membran plasma (Gambar 3) (Lestari, 2013). Menurut Purnobasuki (2011), struktur dasar (dimiliki oleh hampir semua jenis bakteri) meliputi: dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA, dan granula penyimpanan. Dinding sel tersusun dari peptidoglikan yaitu gabungan protein dan polisakarida. Ketebalan peptidoglikan membagi bakteri menjadi bakteri gram positif bila peptidoglikannya tebal, dan bakteri gram negatif bila peptidoglikannya tipis. Struktur tambahan (dimiliki oleh jenis bakteri tertentu) meliputi kapsul, flagelum, pilus, fimbria, klorosom, vakuola gas dan endospora.



Gambar 2. Perbedaan susunan sel bakteri gram positif dan negatif (Rizka, 2013)

2.2.3 Fase Dan Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Menurut Hamdiyati (2011), fase pertumbuhan bakteri terdiri dari fase lag (adaptasi), fase log (pertumbuhan eksponensial), fase stationer (pertumbuhan tetap) dan fase kematian. Pada fase lag bakteri yang dipindahkan dari suatu medium atau lingkungan asalnya ke medium yang baru membutuhkan suatu adaptasi, faktor yang memengaruhi adaptasi suatu bakteri adalah perbedaan nutrisi lingkungan dengan medium inokulasinya sehingga diperlukan media yang tepat untuk menumbuhkan bakteri agar bisa beradaptasi dengan cepat. Selain itu jumlah inokulum atau sel awal bakteri yang semakin tinggi akan mempercepat proses adaptasi dari bakteri. Pada fase log kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak dari pada fase lainnya. Sementara pada fase stationer jumlah sel bakteri yang hidup dan yang mati adalah sama, ukuran sel pada fase stationer menjadi

lebih kecil karena bakteri terus melakukan pemebelahan meskipun nutrisi telah habis. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan-bahan kimia.

2.2.4. Bakteri Laut

Bakteri laut merupakan mikroorganisme yang membutuhkan salinitas untuk pertumbuhannya optimumnya. Bakteri laut dikenal dengan bakteri halofilik, artinya dalam pertumbuhannya membutuhkan konsentrasi garam minimal (NaCl). Bakteri halofilik memiliki kebutuhan garam yang bervariasi, yaitu 5-20 % bakteri halofilik sedang, dan 20-30 % bakteri halofilik ekstrem. Spesies yang tumbuh baik pada lingkungan yang mengandung 2-5% garam disebut halofilik ringan (Ruyitno, 1984 dalam Sainjurnal, 2011)

Bakteri laut memiliki banyak sifat yang berbeda dengan bakteri darat ataupun air tawar. Bakteri laut dalam pertumbuhan primernya membutuhkan air laut atau zat garam. Bakteri laut sebagian besar tumbuh pada suhu yang lebih sejuk dibandingkan dengan bakteri air tawar atau darat. Bakteri laut lebih banyak bersifat gram negatif dan memiliki bentuk batang dan ujungnya tidak bersepora (Connaughey dan Zottoli, 1983).

2.2.5. Interaksi Endosimbion Dengan Inangnya

Hubungan simbiotik mencakup suatu spectrum yang luas mulai dari simbiosis yang kebetulan, sambil lalu, simbiosis fakultatif, mutualisme, hingga parasitik. Mutualisme merupakan hubungan yang saling menguntungkan antara simbion dan organisme yang menjadi induk atau inang. Hubungan seperti ini banyak terdapat pada organisme invertebrate termasuk molusca (Nyibaken, 1988).

Bakteri simbiosis merupakan bakteri yang hidup bersimbiosis dengan organisme hidup lainnya. Simbiosis yang dilakukan oleh inang dengan mikroba khususnya bakteri adalah hubungan yang bersifat endosimbiotik. Organisme endosimbiotik mampu memproduksi metabolisme sekunder yang sangat potensial sebagai bahan antibakteri, bahan antijamur dan sebagai antifouling (Osinga *et al.*, 2001).

Bakteri simbiosis merupakan komunitas bakteri yang hidup bersimbiosis dengan biota lain (inang) dan melakukan berbagai macam pola hubungan sesuai dengan karakteristik dasar interaksinya. Beberapa penelitian telah membuktikan adanya interaksi spesifik antara simbiosis dan inang, termasuk transfer prekursor nutrisi yang memberi peluang adanya kesamaan potensi produk metabolit sekunder di antara keduanya (Agung, 2010).

Interaksi antara organisme yang hidup di lingkungan akuatik sangat beragam dan berperan penting dalam interaksi yang dimainkan oleh mikroorganisme, mikroorganisme banyak ditemukan bersimbiosis dengan tumbuhan maupun dengan binatang akuatik dengan cara menempel pada permukaan maupun didalam tubuh inangnya, beberapa diantaranya sering terdapat pada organ pencernaan binatang yang menjadi inangnya (Assoniwora, 2010 *dalam* Wulandari, 2011).

Telah dijelaskan oleh Pringgenies (2009), bahwa produk alami laut dihasilkan oleh metabolit sekunder juga dihasilkan oleh mikroorganisme yang menjadi simbiosis. Bakteri simbiosis tersebut sebagai simbiosis baik pada jaringan pada intraselular maupun ekstraselular (Wulandari, 2011). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Sumarto (2011), daging *Terebralia sulcata* mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid dan safonoid. Senyawa aktif tersebut diduga dihasilkan oleh mikroorganisme simbiosis.

2.2.6 Cara Endosimbion Hadir Dalam Hewan Laut

Bakteri endosimbion di dalam hewan laut dapat hadir dengan berbagai cara, pada hewan *filter feeder* (menghisap dan menyaring) bakteri simbion hadir bersama dengan nutrisi yang diserap oleh hewan yang menjadi inang disekitar lingkungannya. Adanya interaksi dengan lingkungan memungkinkan organisme bersimbiosis dengan organisme lain untuk mempertahankan dirinya. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh hewan laut kemungkinan dihasilkan oleh kehadiran mikroorganisme pada jaringan hewan inang sebagai simbion, baik simbion intraseluler maupun ekstraseluler. Senyawa aktif tersebut ditransport karena adanya kerjasama antara simbion dengan inangnya (Abubakar, 2009). antibakteri

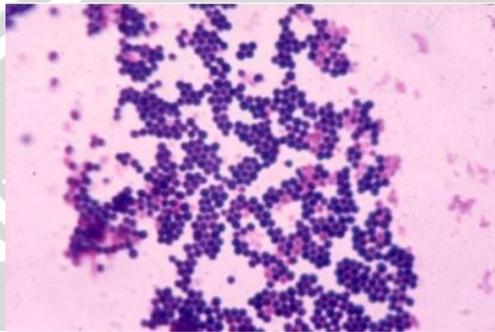
Menurut Agung (2010), bakteri simbion pada hewan bisa diturunkan dari induk secara vertikal melalui pembuahan (sel telur). Bakteri *Photobacterium phosphoreum* merupakan bakteri bioluminisensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *Loligo duvauceli*. Bakteri tersebut tetap hadir pada *Loligo duvauceli* diduga dikarenakan adanya transfer bakteri simbion dari induk ke anaknya melalui sel telur.

2.2.7 Bakteri Patogen

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, dengan diameter 0.5 - 1.5 μ m dengan karakteristik individu berbentuk bulat (*coccus*). *S. aureus* merupakan patogen yang banyak ditemukan karena telah kebal terhadap beberapa antibakteri. Pemberian nama *aureus* didasarkan pada warna koloninya yang berbentuk keemasan saat ditanam pada media. Peptidoglikan merupakan komponen terbesar yang menyusun dinding sel dari *S. aureus*. Selain itu 90% dari *S. aureus* memiliki kapsuler polisakarida (Harris *et al*, 2002). *S. aureus* merupakan

jenis bakteri yang tidak bergerak, tidak bersepora dengan bentuk bulat. Bakteri ini merupakan gram positif dan tersusun dalam kelompok (seperti buah anggur) (Gambar. 3). Bakteri ini tahan garam dan bisa tumbuh baik pada medium yang mengandung 7,5% NaCl serta dapat memfermentasi manitol (Fardiaz, 1992 dalam Dewi, 2014).



Gambar 3. Sel *Staphylococcus aureus* (Rizka, 2013)

Menurut Zipcodezoo (2015), klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Devisio : Firmicutes
Class : bacilli
Order : Bacillales
Family : Staphylococcacea
Genus : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*

b. *Vibrio alginoliticus*

Vibrio alginoliticus merupakan salah satu bakteri pathogen, bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang 2-3 μm , menghasilkan katalase dan oksidase serta bergerak dengan satu flagella di ujung sel. *V. alginoliticus* merupakan bakteri pathogen yang dalam keadaan normal berada pada lingkungan yang terpelihara, kemudian berkembang

dari sifat saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya berubah (Wulandari, 2011).

Vibrio alginolyticus merupakan bakteri halofilik (toleran terhadap garam) dan termasuk bakteri gram negatif dan bewarna merah dalam pewarnaan gram (Gambar 4). *V.alginolyticus* yang hidup secara alami di lingkungan laut dan lingkungan muara. Bakteri ini diakui bersifat patogen terhadap manusia dan akan memiliki efek yang meningkat pada musim panas. *V. alginolyticus* kebanyakan menginfeksi bekas luka yang terkena air laut yang tercemar (Reilly *et al.*, 2011)

Klasifikasi *V. alginolyticus* menurut Zipcodezoo (2015) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

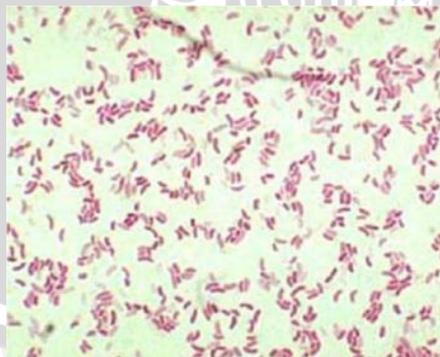
Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : Vibrio

Spesies : *Vibrio alginolyticus*



Gambar 4. Bentuk Sel Bakteri *V. alginolyticus* (Rizka, 2013)

2.3 Media Kultur

Mikroorganisme di lingkungan perairan dapat hidup pada semua kedalaman mulai dari daerah permukaan ke bagian paling bawah dari dasar laut. Mikroorganisme laut penting untuk siklus ekologi karena mereka membentuk fondasi banyak rantai makanan. Menurut Hamdiyati (2011), pada fase lag bakteri yang dipindahkan dari suatu medium atau lingkungan asalnya ke medium yang baru membutuhkan suatu adaptasi. Faktor yang mempengaruhi adaptasi suatu bakteri adalah perbedaan nutrisi lingkungan dengan medium inokulasinya, sehingga diperlukan media yang tepat untuk menumbuhkan bakteri agar bisa beradaptasi dengan cepat. Media TSA merupakan media yang non selektif sehingga baik digunakan untuk menumbuhkan bakteri, termasuk bakteri laut.

2.4 Antibakteri

Antibakteri juga banyak berasal dari organisme laut yang diekstrak dari toksin dinoflagelata, bakteri dan virus yang diekstrak dari moluska (siput, kerang, jenis cumi) yang mampu membunuh penisilin resiten dari *Staphylococcus* (Webber dan Thurman, 1991).

2.5 Uji Antibakteri

Menurut Setiabudi dan Gan (1995), antibakteri adalah senyawa yang dapat digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan. Suatu antibakteri ideal memiliki toksisitas selektif. Antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak berbahaya bagi hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, bakteri ada yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain (bakteriostatik), dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimal antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri disebut

kadar hambat minimum (KHM), sedangkan kadar minimum antibakteri yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri disebut kadar bunuh minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM.

Menurut Davidson (2001) dalam Dewi (2014) mekanisme penghambatan dan kerusakan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri berbeda-beda. Penghambatan mikroba oleh antibakteri secara umum disebabkan oleh gangguan pada komponen penyusun sel, terutama komponen penyusun dinding sel, reaksi dengan membran sel yang dapat mengakibatkan kehilangan komponen penyusun sel, penghambat terhadap sintesis protein dan gangguan fungsi materi.

Beberapa bahan antibakteri tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antibakteri hanya menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi yang tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu metode yang bisa digunakan dalam uji antibakteri adalah dengan menggunakan metode uji cakram. Kertas cakram yang berisi antibakteri diletakkan pada permukaan agar yang telah ditanami mikroorganisme uji. Penghambat pertumbuhan mikroorganisme oleh antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih disekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994) dalam (Wulandari, 2011).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nofiani (2009), menunjukkan bahwa senyawa dari golongan flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Mekanisme penghambatannya berupa perusakan membran sel. Gugus OH berperan penting dalam pelepasan ion H^+ yang

menyerang gugus fosfat sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam laktat dan asam fosfat.

Menurut Anonimous (2012), ada tiga metode umum yang biasa dilakukan untuk menentukan kepekaan suatu bakteri terhadap antibakteria, yaitu:

1. Cara penanaman kaldu pepton (*serial broth dilution method*).

Cara ini dilakukan dengan membuat penanaman antibakteria pada sederetan tabung reaksi yang berisi media cair. Ke dalam tabung-tabung tersebut dimasukkan bakteri yang akan diperiksa dengan jumlah tertentu dan kemudian diinkubasikan. Dengan cara ini akan diketahui konsentrasi terendah antibakteria yang menghambat pertumbuhan bakteri yang disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC).

2. Cara difusi agar/kertas cakram (*the agar diffusion method/medicated paper disc method*).

Cara ini menggunakan cakram dari kertas saring yang mengandung antibakteria/bahan kimia lain dengan kadar tertentu yang diletakkan di atas lempeng agar yang ditanami bakteri yang akan diuji, kemudian di inkubasi. Apabila tampak adanya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram antibakteria, hal ini menunjukkan bakteri yang diuji sensitif terhadap antibakteria tersebut. Cara ini disebut juga cara difusi agar.

3. Cara seri agar lempeng (*plate dilution method*).

Pada umumnya cara ini hampir sama dengan cara tabung atau kaldu pepton, perbedaannya terletak pada media yang digunakan yaitu pada cara ini menggunakan media padat. Kelemahan cara ini adalah tidak dapat di

gunakan untuk semua jenis bakteri. Untuk beberapa bakteri tertentu seperti bakteri yang membentuk koloni yang sangat halus dalam media agar kaldu pepton (contoh : *Streptococcus*) atau bakteri yang akan menyebar pertumbuhannya dalam media padat (contoh : *Proteus*), cara ini tidak dapat digunakan.

Kemampuan isolat bakteri yang bersimbiosis dengan organisme dalam menghambat pertumbuhan mikroba target, merupakan bentuk aktivitas antagonis yang dilakukan dengan menghasilkan kandungan senyawa yang bersifat antimikrobal. Biosintesis senyawa antimikrobal berperan penting dalam proses pelekatan, kolonisasi target hingga kompetisi dalam mendapatkan ruang dan nutrisi dengan mikroba lainnya (Romanengko *et al.*, 2008).

2.6 Hasil Penelitian Terdahulu

Beberapa penelitian tentang aktivitas antibakteri dari bakteri endosimbion organisme laut telah dilakukan, baik bakteri simbiosis dari hewan maupun dari tumbuhan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bakteri endosimbion organisme laut memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri patogen. Pringgenies (2009), menemukan bakteri endosimbion dari gastropoda jenis *Stramonta armigera* berpotensi terhadap *Pseudomonas*, *Escherichia. coli*, dan *Enterobakter 5*. Wulandari (2014) berhasil mengisolasi bakteri endosimbion dari spons yang berpotensi terhadap *S. aureus* dan *Shigela disentria*. Bakteri simbiosis dari tumbuhan juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri, seperti yang dipaparkan oleh Lidayanti (2013), yang mengisolasi bakteri simbiosis dari lamun yang berpotensi terhadap *S. aureus*.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

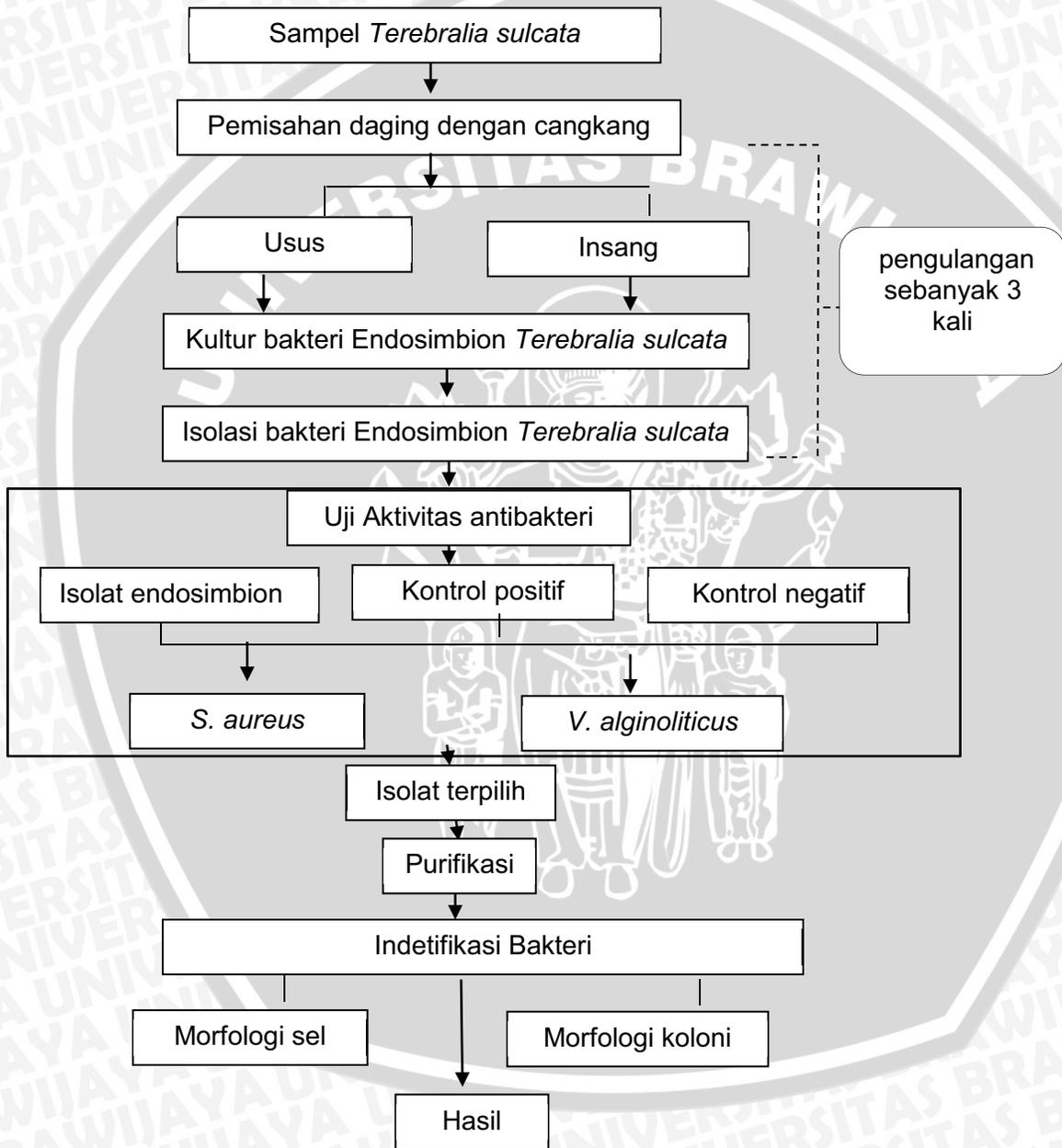
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - Mei 2015. Pengambilan sampel dilakukan di Pantai Clungup, Kabupaten Malang. Pantai Clungup secara geografis terletak pada kordinat 8°26'19"S dan 112°40'4"E terletak di Desa Sitarjo Kecamatan Sumbermanjing Wetan dan merupakan bagian dari kawasan Pesisir Selatan Jawa yang bertemu langsung dengan Samudra Hindia (Gambar. 5)



Gambar 5. Lokasi pengambilan sampel di Pantai Clungup

3.2 Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yang meliputi pengambilan sampel di lapang hingga identifikasi bakteri(Gambar 6).



Gambar 6. Diagram Alir Penelitian

3.2.1 Koleksi Sampel

Sampel *Terebralia sulcata* diambil dari Pantai Clungup Kabupaten Malang. *Terebralia sulcata* diambil secara langsung dengan tangan. Sampel gastropoda yang diambil hanya jenis *Terebralia sulcata* dengan ciri-ciri warna hitam, bentuk seperti trompet dengan ujung runcing, permukaan cangkang bergelombang dan sedikit bergerigi dengan dengan ukuran panjang 12-13 cm. Sampel yang telah dipilih dimasukkan kedalam plastik, dan disimpan didalam *cool box* sebelum disimpan di dalam kulkas dengan suhu 3-4⁰C.

3.2.2 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Laminar Air Flow		Mengendalikan kontaminan
2	Gunting/Pisau	-	Memotong sampel <i>Terebralia sulcata</i> di lokasi penelitian
3	<i>Camera digital</i>	Sony-Cybershoot	Dokumentasi di Lapang dan di Laboratorium
4	Coolbox	Coleman	Penyimpanan sampel sebelum diamati di laboratorium
5	Beaker glass	Iwaki Pyrex 1000ml, 500ml	Wadah alat
6	<i>Autoklave</i>	GEA	Alat sterilisasi basah
7	Timbangan Digital	AND EK 610i	Menimbang bahan dan sampel yang akan digunakan
8	Erlenmeyer	Iwaki Pyrex 800 ml	Wadah media dan bahan
9	Tabung Reaksi	Iwaki Pyrex 15 x 150 mm	Wadah dalam melakukan pengenceran bertingkat
10	Pipet Serologis	Iwaki Pyrex 1 ml	Mengambil larutan
11	Pipet Volume	Iwaki Pyrex 10 ml	Mengambil larutan
12	Bola Hisap	-	Membantu pipet volume mengambil larutan

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
13	Gelas ukur	Iwaki Pyrex 100 ml	Mengukur volume larutan yang akan digunakan
14	Inkubator	Mehemert	Penyimpanan media pada suhu yang ditentukan
15	Ose Bulat	Steinles steel	Inokulasi dari media padat ke media padat atau ke media cair
16	Ose Lurus	Steinles steel	Inokulasi dari media padat ke media padat
17	Cawan petri	Steriplan	Wadah penanaman mikroorganisme
18	Washing Bottle	200 ml	Wadah penyimpanan aquades
19	Sendok bahan	15 cm	Mengambil bahan dalam ukuran kecil
20	Objek glass	Sail Brand 26x76mm	Tempat pengamatan mikroba dengan mikroskop
21	Cover glass	Focus 24 x 24 mm	Penutup objek glass saat pengamatan dengan mikroskop
22	Pipet tetes	-	Mengambil larutan dalam skala kecil
23	Mikroskop	Olympus CX21	Pengamatan mikroorganisme
24	Crucible tongs	-	Memudahkan mengambil alat yang panas
25	Vortex mixer	Barnstead Thermolyne	Menghomogenkan larutan secara otomatis
26	Sprayer	100 ml	Wadah alkohol 70%
27	Bunsen	150 ml	Sumber panas skala kecil dan pengkondisian aseptis
28	Hotplate	IKAMAG RET	Memanaskan bahan atau larutan yang akan digunakan
29	Kulkas	Sharp ion	Meinkubasi media pada suhu dingin
30	Kaliper digital	Digital Caliper 6" 150mm	Menghitung diameter kertas cakram

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam Penelitian ini dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel 2. Bahan bahan yang digunakan

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1	<i>Terebralia sulcata</i>	Sampel	Sampel yang akan diamati bakteri endosimbionya

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
2	Plastik PP	Petromax 1 Kg	Wadah sampel <i>Terebralia sulcata</i>
3	Alkohol	Konsentrasi 70%	Pengkondisian aseptis di laboratorium
4	Tissu	Royal	Mengeringkan alat yang telah dicuci
5	Media Tryptic Soy Agar	Oxoid, 40 gr/L	Media penanaman bakteri endosimbion
6	Media Tryptic Soy Broth	Merck 30 gr/L	Media kultur bakteri
7	Aquades	Hidrobath	Pelarut universal
8	Kapas	500 gr	Mencegah uap air masuk pada alat-alat yang disterilisasi
9	Koran	-	Mencegah uap air masuk pada alat-alat yang disterilisasi
10	Tali	Angsa	Mengikat alat-alat yang akan disterilisasi
11	Kertas label	Kojico	Memberi label nama
12	Kristal Ungu	-	Pewarna primer
13	Iodium	-	Penguat warna primer
14	Safranin	-	Pewarna sekunder
15	Etanol 70%	Pa	Meluruhkan lemak
16	Spiritus	-	Bahan bakar dalam bunsen
17	Aluminium foil	Kinpak	Menutup alat dan bahan saat disterilisasi
18	Kertas cakram	Oxoid	Uji aktivitas antibakteri
19	Plastik Wrap	Total wrap	Membungkus alat
20	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Bakteri Patogen
21	<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	Bakteri Patogen

3.2.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.

Sterilisasi dilakukan pada setiap tahapan mulai dari penanaman sampai dengan uji antibakteri. Sterilisasi dilakukan pada alat dan bahan. Langkah dalam sterilisasi yaitu:

1. menyediakan alat dan bahan yang akan disterilisasikan dan membungkus dengan kertas koran sampul lalu dilipat.
2. Memasukan alat dan bahan yang akan di sterilisasikan ke dalam *autoclave* lalu menutup *autoclave* secara diagonal
3. Menghidupkan *autoclave*.
4. Menunggu selama 15 menit pada suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm
5. Mematikan *autoclave* dan membuka *autoclave* secara diagonal

3.2.4 Pembuatan Media

Pertumbuhan bakteri laut memerlukan air laut atau kadar garam, sehingga bakteri laut digolongkan ke dalam kelompok bakteri halofilik. Bakteri yang akan diisolasi membutuhkan medium pertumbuhan untuk kelangsungan hidupnya. Medium yang biasa digunakan untuk menumbuhkan bakteri yaitu Nutrien Agar (NA), Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrien Broth (NB) (Lisdayanti, 2013). Dalam Penelitian ini media yang digunakan adalah media TSA dan TSB. TSA dan TSB merupakan media nonselektif yang bisa digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri laut karena memiliki komposisi yang sesuai untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Adapun komposisi dari TSA disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Media TSA

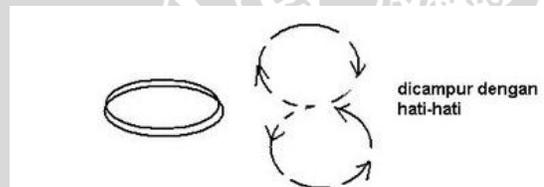
Formula	Gram per liter
Trypone	15
Soya Peptone	5
Sodium Chloride	5
Agar	15

Langkah langkah pembuatan media TSA pada cawan Petri yaitu :

1. Menimbang TSA sesuai kebutuhan dengan rumus:

$$TSA = \frac{40}{1000} \times \sum Cawan \times volume aquades$$

2. TSA dilarutkan dengan akuades dalam gelas erlemeyer, dan dipanaskan di atas hot plate dan diaduk dengan spatula.
3. TSA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
4. Menuang media TSA dalam cawan petri dan agar miring. Menggerakkan cawan petri seperti angka 8 (Gambar 7)
5. Ditunggu sampai mebecentuk jel.



Gambar 7. cara menggerakkan media (Sutedjo, 1991)

Adapun langkah pembuatan agar miring yaitu :

1. Menimbang TSA sesuai kebutuhan dengan rumus:

$$TSA = \frac{40}{1000} \times \sum Tabung \text{ reaksi} \times volume \text{ aquades}$$

2. TSA dilarutkan dengan akuades dalam gelas erlemeyer, dan dipanaskan di atas hot plate dan diaduk dengan spatula .
3. Memasukan ke dalam tabung reaksi

4. TSA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit .
5. Memiringkan tabung reaksi dan menunggu me bentuk jel

Adapun langkah langkah pembuatan media TSB yaitu:

1. Menimbang TSB sesuai kebutuhan dengan rumus:

$$TSB = \frac{30}{1000} \times \sum \text{Tabung reaksi} \times \text{volume aquades}$$

2. Melarutkan TSB dengan akuades dalam gelas erlemeyer, lalu ditutup dengan kapas
3. Memanaskan TSB di atas hot plate.
4. Memasukan TSB kedalam tabung reaksi menggunakan pipet dan bola hisap lalu ditutup kapas
5. TSB disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit .
6. Menunggu media dingin

3.2.5 Isolasi

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Menurut Miridhi (2012), ada beberapa cara umum yang dapat dilakukan untuk mengisolasi mikroba antara lain, untuk mengisolasi bakteri dapat dilakukan dengan cara goresan (*streak plate*), cara taburan atau tuang (*pour palte*), cara sebar (*spread plate*), cara pengenceran (*dilution method*), serta mikromanipulator (*the micromanipulator method*). Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode gores. Adapun langkahnya sebagai berikut:

a. Penanaman

Penanaman bakteri dilakukan menurut metode Julianti (2013), yaitu metode gores langsung tanpa pengenceran bertingkat. Pada tahap penanaman dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Bagian *Terebralia sulcata* yang digunakan hanya bagian insang dan usus. Pemilihan bagian insang karena gastropoda merupakan hewan *filter feeder* sehingga diduga akan banyak terkandung bakteri endosimbion yang berasal dari lingkungannya (harizontal), sedangkan usus merupakan pusat pencernaan dari gastropoda sehingga kemungkinan terdapat bakteri endosimbion yang diturunkan secara vertikal dari induknya dibagian usus. Langkah dalam penanaman bakteri sebagai berikut:

1. Memisahkan daging dari cangkang lalu mencuci dengan akuades sebanyak 3 kali.
2. Memotong bagian insang dan usus masing masing 0.5 cm. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam potongan *terebralia sulcata* pada alkohol 70% selama 90-120 detik. Selanjutnya mencuci dengan akuades untuk menghentikan proses sterilisasi.
3. Menggoreskan potongan usus dan insang pada media TSA secara zig zag dengan bagian yang baru dipotong menyentuh media(Gambar 8)
4. Menginkubasi selama 1 x 24 jam pada inkubator dengan suhu 27-32 °C



Gambar 8. Cara menggores secara zigzag (Sutedjo, 1991)

b. Isolasi

Adapun langkah isolasi bakteri endosimbion adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan agar miring dan mengambil cawan petri yang berisi bakteri endosimbion hasil penanaman
2. Memanaskan jarum ose lurus diatas bunsen hingga berpijar
3. Menyentuhkan jarum ose lurus pada media yang tidak ada bakterinya
4. Mengambil 1 gores bakteri yang koloninya terpisah, kemudian diinokulasi ke agar miring
5. Membungkus dengan plastik lalu menginkubasi selama 1X24 jam pada inkubator dengan suhu 27-32 °C

3.2.6 Pembuatan Stok Bakteri Endosimbion

Pembuatan stok bakteri pada penelitian ini menggunakan media TSA agar miring sebagai media pertumbuhan bakteri. Isolat bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata* dipilih sebanyak 6 isolat dari hasil isolasi pada setiap penanaman untuk mendapatkan peluang kandidat yang kuat pada uji antibakteri. Adapun proses pembuatan stok bakteri adalah sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan tabung reaksi yang berisi media TSA miring.
- 2) Memijarkan jarum ose dan menginokulasi endosimbion ke media.

- 3) Menutup dengan kapas, plastik wrap untuk selanjutnya diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 27°-30°C.
- 4) Menyiapkan tabung reaksi yang berisi media TSB.
- 5) Bakteri endosimbion dari agar miring diambil satu ose dan diinokulasikan ke media TSB.
- 6) Menghitung nilai *optical density* media TSB yang berisi bakteri endosimbion menggunakan spektrofotometer.

3.2.7 Peremajaan Bakteri Patogen

Isolat murni bakteri patogen (*S. aureus* dan *V. alginolyticus*) didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Isolat bakteri diperbanyak untuk memenuhi kebutuhan selama melakukan penelitian untuk itu perlu dilakukan peremajaan bakteri. Adapun langkah peremajaan sebagai berikut:

1. Bakteri patogen yang berasal dari biakan murni diambil satu ose.
2. Bakteri diinokulasikan dengan cara digoreskan ke media TSA miring.
3. Menginkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

3.2.8 Pembuatan Larutan Stok Bakteri Patogen

Pembuatan stok bakteri patogen menggunakan media TSB sebagai media pertumbuhan. Adapun tahapan pembuatan larutan stok bakteri patogen sebagai berikut :

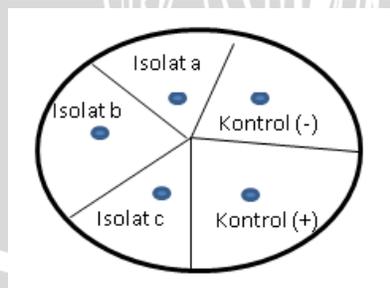
- 1) Menyiapkan bakteri patogen dari hasil peremajaan.
- 2) Menginokulasi bakteri patogen dari TSA miring ke media TSB.
- 3) Menghitung nilai *optical density* dari media TSB yang berisi bakteri patogen menggunakan spektrofotometer.

3.2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode cakram, pada setiap cawan petri terdapat 5 kertas cakram yaitu 3 kertas cakram yang direndam pada isolat bakteri endosimbion dan 2 kertas cakram sebagai kontrol, yaitu kontrol positif (tetrasiklin) dan kontrol negatif (aquades) (Gambar 9). Bakteri uji yang digunakan adalah *S. aureus* yang merupakan bakteri patogen gram positif dan *V. alginolyticus* yang merupakan bakteri patogen gram negatif.

Adapun langkah uji cakram sebagai berikut:

1. Isolat bakteri disuspensi dalam media TSB, sehingga turbiditas tampak mencapai 0.5 standar McFarland agar kepadatan bakteri endosimbion dan bakteri uji sama.
2. Mengambil 500 mikrolit bakteri endosimbion dari TSB, kemudian ditetaskan pada kertas cakram ditunggu hingga mengering
3. Menggoreskan bakteri patogen diatas media TSA pada cawan petri dan meletakkan kertas cakram diatasnya
4. Menginkubasi selama 2x24 jam
5. Mengamati dan mengukur zona hambatan yang terbentuk.



Gambar 9. Desain uji cakram pada cawan petri

3.2.10 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengidentifikasi morfologi sel dan jenis gram dari bakteri endosimbion. Menurut Tortora dan Derrickson (2006) dalam Lisdayanti (2013), bakteri secara umum dibedakan menjadi dua bagian berdasarkan sifat pewarnaan gram yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang memberi respon berwarna biru keunguan jika dilakukan uji pewarnaan gram, sedangkan gram negatif memberikan respon warna merah jika dilakukan uji pewarnaan gram. Dalam penelitian ini bakteri yang dipilih untuk pewarnaan gram adalah bakteri yang memiliki daya hambat paling besar dari setiap penanaman. Langkah pewarnaan gram adalah sebagai berikut:

1. Membersihkan kaca objek dengan alkohol, memanaskan jarum loop diatas bunsen hingga berpijar
2. Mengambil 1 ose bakteri dari agar miring dengan jarum loop, menggoreskan di atas kaca objek secara zigzag dan menyebar, memfiksasi kaca bojek diatas bunsen
3. Menetesi preparat dengan 1 tetes kristal ungu dan diamkan selama 1 menit kemudian membilas dengan akuades
4. Menetesi preparat dengan 1 tetes iodium dan mendinginkan selam 2 menit, kemudian membilas dengan akudes
5. Menyuci dengan alkohol 70% kemudian membilas dengan akuades
6. Menetaskan preparat dengan 1 tetes safranin dan tunggu 30 detik
7. Meletakkan preparat dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000X sambil melihat hasil

3.2.11 Purifikasi dan Identifikasi Koloni

Purifikasi dilakukan untuk memudahkan dalam pengidentifikasian bakteri (Semangun, 1996 dalam Fatimah, 2012). Dalam penelitian ini purifikasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat sampai dengan 10^{-2} . Purifikasi hanya dilakukan pada isolat yang memiliki potensi daya hambat paling besar pada setiap penanaman. Purifikasi bertujuan untuk memudahkan pengamatan morfologi koloni dari bakteri endosimbion. Adapun langkah purifikasi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan agar yang sudah berisi bakteri endosimbion yang telah disolasi
2. Memanaskan jarum lop diatas bunsen hingga berpijar
3. Menyentuhan jarum lop pada media yang tidak ada bakterinya kemudian mengambil 1 gores bakteri
4. Melarutkan bakteri pada larutan pengencer sampai konsentrasi 0.5 McFarland
5. Mengambil 1 ml dan masukan kedalam tabung reaksi 10^{-1} kemudian mengambil 1 ml kembali dari 10^{-1} dan masukan ke dalam tabung 10^{-2}
6. Mengambil 500 mikrolit bakteri pada tabung reaksi 10^{-2}
7. Menanam pada media TSA pada cawan petri, melakukan inkubasi selma 24 jam
8. Mengidentifikasi morfologi bakteri endosimbion *Terebralia sulcata*

3.3 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium dianalisis secara deskriptif dengan menggambarkan karakteristik bakteri endosimbion yang didapatkan ditinjau dari bentuk morfologi dan kemampuan daya hambatnya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri

Penanaman adalah tahapan awal dalam melakukan isolasi bakteri. Pada penelitian ini bagian yang ditanam hanya bagian usus dan insang. Pemilihan bagian insang karena gastropoda merupakan hewan *filter feeder* sehingga diduga akan banyak terkandung bakteri endosimbion yang berasal dari lingkungannya (horizontal), sedangkan usus merupakan pusat pencernaan dari gastropoda sehingga kemungkinan terdapat bakteri endosimbion yang diturunkan secara vertikal dari induknya dibagian usus. Potongan usus dan insang *Terebralia sulcata* yang telah diperoleh digoreskan pada media TSA dengan bagian yang baru dipotong menyentuh media TSA. Sampel dari insang diberi kode I dan sampel dari Usus diberi kode U. Penanaman dilakukan sebanyak 3 kali dari sampel *Terebralia sulcata* yang berbeda. Penanaman pertama diberi kode A, penanaman kedua diberi kode B, dan penanaman ketiga diberi kode C. Pada setiap penanaman dilakukan sebanyak 6 sampel untuk masing masing sampel usus dan insang, hingga dari penanaman didapatkan 18 isolat dari usus dan 18 isolat dari insang. Bakteri yang tumbuh hasil penanaman (Gambar 10), selanjutnya diisolasi dengan menggunakan ose lurus kedalam agar miring untuk mendapatkan bakteri murni (Gambar 11).



Gambar 10. Hasil penanaman



Gambar 11. Hasil isolasi ke agar miring

4.2 Uji Antibakteri

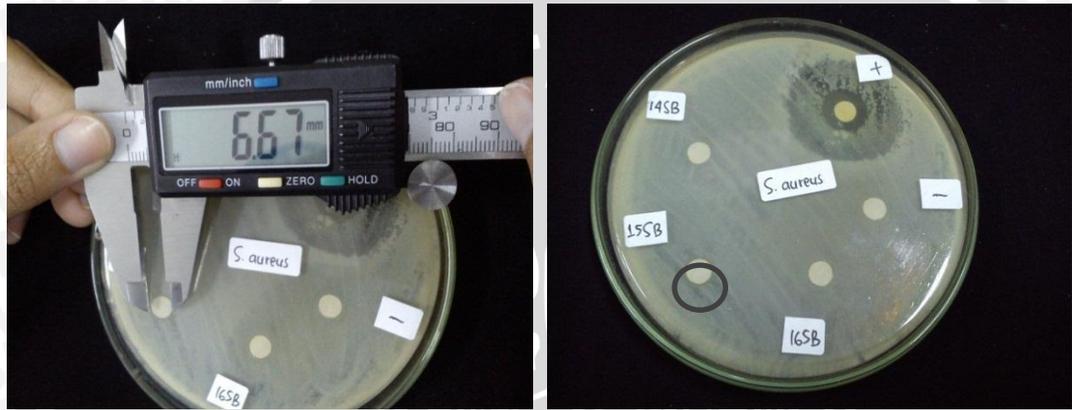
Pada penelitian ini, uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Setiap bakteri endosimbion yang diperoleh diuji dengan bakteri patogen *S. aureus* dan *Vibrio alginoliticus*. Bakteri patogen digoreskan pada media TSA pada cawan petri. Pada setiap cawan petri terdapat 3 isolat bakteri endosimbion yang telah dikeringkan pada kertas cakram dan terdapat 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif. Kontrol positif terbuat dari tetrasiklin dan kontrol negatif terbuat dari aquades. Uji antibakteri dilakukan sebanyak 1 kali untuk setiap penanaman. Pada setiap pengulangan 6 isolat dari usus dan 6 isolat dari insang ditantang dengan bakteri patogen *S. aureus* dan *Vibrio alginoliticus*. Pengamatan dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada waktu 24 jam dan 48 jam. Data akhir yang digunakan adalah hasil pengamatan 48 jam.

Hasil uji daya hambat pada penanaman pertama (Tabel 4) didapatkan 5 isolat yang mampu membunuh bakteri patogen dengan diameter zona bening terbesar 0.94mm, ditemukan pada isolat dengan kode I5SA (Gambar 12). Terdapat 7 isolat yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang ditunjukkan dengan terbentuknya pertumbuhan bakteri endosimbion disekitar kertas cakram dengan diameter zona hambat terbesar 2.81mm pada isolat U2SA.



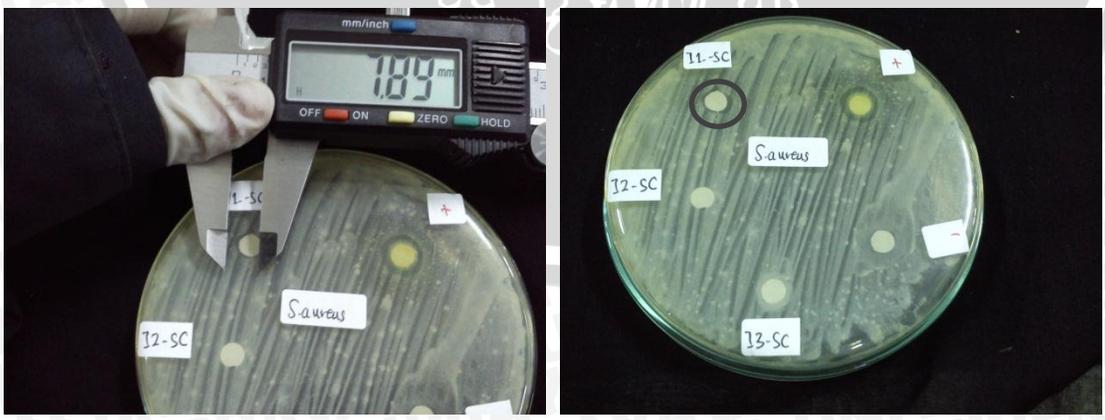
Gambar 12. Hasil uji daya hambat penanaman pertama

Hasil uji daya hambat dari isolat penanaman kedua (Tabel 4) juga didapatkan 5 isolat yang mampu membunuh bakteri patogen dengan diameter zona bening terbesar pada isolat I5SB sebesar 0.67mm (Gambar 13). Terdapat 7 isolat yang hanya mampu menghambat dengan diameter zona hambat terbesar pada isolat I1SB dengan diameter 4.72 mm.



Gambar 13. Diameter zona bening penanaman kedua

Pada penanaman ketiga didapatkan jumlah isolat yang mampu membunuh dan menghambat sama yaitu 6 isolat (Tabel 4). Pada pengulangan ketiga diameter zona bening terbesar adalah 1.89 yaitu isolat I1SC (Gambar 14), sedangkan diameter zona hambat terbesar adalah 3.64 (U4SC).



Gambar 14. Diameter zona bening penanaman kedua

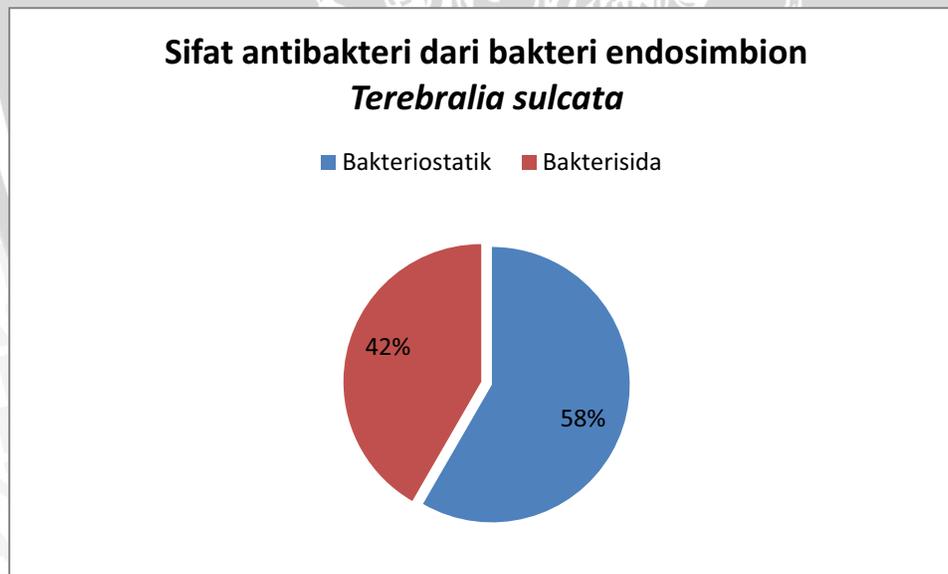
Tabel 4. Hasil uji daya hambat endosimbion *Terebralia sulcata* terhadap *S. aureus* dan *V. aginoliticus*

Diameter zona bening (mm)									
Penanaman Pertama									
Insang	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>		Usus	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>	
	24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam		24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam
I1-SA	0	0.94*	0	0	U1-SA	0.26*	0,14	0,63	2.55*
I2-SA	0,12*	0,23*	0	0	U2-SA	2.71*	2.81*	0,6	2.30*
I3-SA	0	0.30*	2.20*	0	U3-SA	0.85*	2.55*	2.5*	0
(+)	7.8	8.4	3.4	5.3	(+)	6.9	4.19	4.19	2.5
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0
I4-SA	0.54*	0,64	2.24*	0	U4-SA	0	0	0,12	0
I5-SA	1,18	0,94	0,53	0,78	U5-SA	0	2.59*	0	0
I6-SA	2.09*	0	2.04*	2.21*	U6-SA	0	1.71*	0	0
(+)	3.7	4.9	6.9	4.2	(+)	3.9	2.02	2.02	4.3
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0
Penanaman Kedua									
Insang	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>		Usus	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>	
	24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam		24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam
I1-SB	0	4.72*	0,11	0,31	U1-SB	0	3.78*	0	0
I2-SB	0	0.88*	0	0	U2-SB	0.11*	1.97*	0	3.18*
I3-SB	0	1.05*	0	0.54*	U3-SB	0.49*	0,66	2.2*	0,57
(+)	3,7	4.8	4	4.2	(+)	4,7	4.4	4.25	4.3
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0
I4-SB	0.74*	1.76*	0,07	0.82*	U4-SB	0	0	2.4*	3.55*
I5-SB	0.02*	0,31	0	0,4	U5-SB	0	0	0,53	0
I6-SB	0	0,3	0	0,14	U6-SB	2.71*	2.87*	2.04*	1,52*
(+)	7.02	6.9	8.7	8.7	(+)	2.25	2.50	6.36	6.3
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0
Penanaman Ketiga									
Insang	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>		Usus	<i>S. aureus</i>		<i>v. aginoliticus</i>	
	24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam		24 jam	48 Jam	24 jam	48 Jam
I1-SC	1.69	1.88	0,1	0,25	U1-SC	0.94	0.63	0	0
I2-SC	0	0	0.34*	0,08	U2-SC	0.76	0	0	0
I3-SC	2.24*	2.09*	0	0	U3-SC	1.04	0.36	0	0
(+)	3.9	2.9	4.11	2.6	(+)	2.2	2.5	2.5	2.6
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0
I4-SC	0.37	0.94	0,15	0	U4-SC	3.64*	3.52*	3.14*	2.93*
I5-SC	0	0	0	0	U5-SC	2.62	1.29	2.7*	1,2
I6-SC	0.96	0	0,15	0	U6-SC	0.11	0	0,3	0,53
(+)	4.2	2.3	2.2	3.5	(+)	2.2	2.5	2.5	2.7
(-)	0	0	0	0	(-)	0	0	0	0

Keterangan : * : hanya mampu menghambat (+): tetrasiklin (-) : aquades
 “huruf tebal dan diblok kuning” : Isolat terpilih (diameter zona bening terbesar)

4.3 Sifat Antibakteri Endosimbion *Terebralia sulcata*

Hasil uji daya hambat dari 36 isolat yakni 18 isolat dari insang dan 18 isolat dari usus pada semua pengulangan, didapatkan hasil pada waktu pengamatan 48 jam 15 isolat mampu membunuh bakteri patogen. Hal ini dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram, sedangkan 20 isolat lainnya tidak mampu membunuh bakteri patogen akan tetapi mampu menghambat pertumbuhannya. Hal ini ditandai dengan tumbuhnya bakteri endosimbion (zona hambat) disekitar kertas cakram. Hasil ini menunjukkan sifat antibakteri dari bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* lebih dominan sebagai bakteri penghambat (bakteriostatik) dibandingkan sebagai bakteri pembunuh (bakterisida) (Gambar 15). Hasil tersebut sesuai dengan yang diperoleh Setiabudi (1995), bahwa senyawa antibakteri ada yang bersifat menghambat dan ada yang bersifat membunuh.



Gambar 15. Sifat antibakteri bakteriostatik lebih dominan dibandingkan sifat bakterisida pada endosimbion *Terebralia sulcata*

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perubahan sifat antibakteri dari endosimbion dari *Terebralia sulcata*. Pada waktu pengamatan 24 jam beberapa isolat hanya mampu menghambat (bakteriostatik) bakteri patogen akan tetapi, pada pengamatan 48 jam isolat bakteri tersebut mampu membunuh (bakterisida) bakteri patogen seperti yang ditunjukkan Isolat I4SA. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh isolat I4SB, pada waktu 12 jam isolat tersebut mampu membunuh bakteri patogen akan tetapi setelah 48 jam isolat tersebut hanya bisa menghambat. Pada beberapa isolat (contoh isolat I5SB), dalam waktu 24 jam tidak menunjukkan aktivitas antibakteri, akan tetapi setelah 48 jam isolat tersebut mampu membunuh bakteri patogen. Hal yang sebaliknya ditunjukkan oleh beberapa isolat seperti isolat I4SC, pada waktu 24 jam isolat tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri (bakterisida), akan tetapi setelah 48 jam tidak terdapat aktivitas antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa sifat suatu antibakteri dapat berubah (meningkat maupun menurun).

Perbedaan hasil uji daya hambat pada penelitian ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan fase pertumbuhan pada bakteri isolat. Bakteri yang mengalami peningkatan aktivitas antibakteri kemungkinan disebabkan bakteri tersebut telah mencapai fase stasioner sehingga senyawa metabolisme sekunder yang dihasilkan meningkat. Sementara bakteri yang mengalami penurunan aktivitas antibakteri diduga disebabkan karena perubahan fase bakteri dari fase stasioner menuju fase istirahat atau kematian yang sehingga senyawa metabolisme sekunder yang dihasilkan menurun. Bakteri yang tidak tumbuh pada uji cakram seperti isolat I5C kemungkinan disebabkan karena isolat tersebut sudah dikalahkan patogen sebelum mencapai fase stasioner. Hal ini didukung oleh pernyataan Ahmad (2014) yang menyebutkan senyawa aktif tidak selalu dihasilkan oleh mikroorganisme setiap

waktu, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Volk dan Wheeler (1990), menyebutkan bahwa bakteri menghasilkan metabolisme sekunder seperti senyawa antibakteri pada fase stasioner, sementara pada fase pertumbuhan (Log) bakteri hanya menghasilkan metabolisme primer seperti karbohidrat dan protein. Nuraida (2010) juga menyebutkan setiap bakteri memiliki waktu yang berbeda dalam mensintesis metabolisme sekundernya.

Ditinjau dari kuantitas isolat yang mampu membunuh bakteri patogen, isolat dari usus dan insang memiliki kuantitas yang sama, 8 isolat bakteri yang berasal dari insang dan 8 isolat yang berasal dari usus mampu membunuh bakteri patogen. Akan tetapi, jika dilihat dari kekuatan untuk membunuh bakteri patogen, isolat bakteri yang berasal dari usus memiliki kemampuan menghambat paling besar yaitu isolat pada penanaman ketiga dengan kode I1-SC dengan zona bening terhadap *S. aureus* sebesar 1.88 mm (Tabel 5).

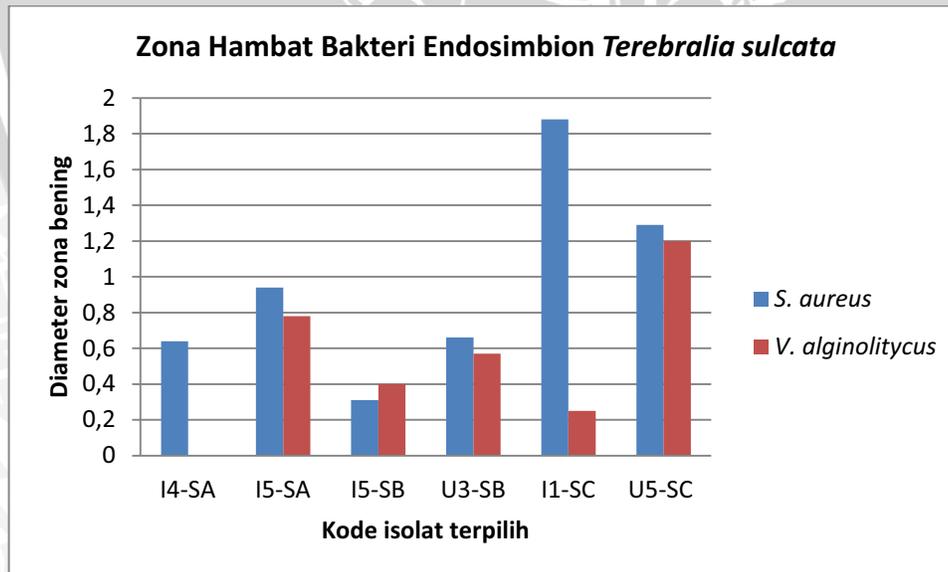
Tabel 5. Daftar diameter zona bening 48 jam dari 6 isolat terpilih

Kode	<i>S. aureus</i>	<i>V. alginolitycus</i>
I4-SA	0,64	0
I5-SA	0,94	0,78
I5-SB	0,31	0,4
U3-SB	0,66	0,57
I1-SC	1,88	0,25
U5-SC	1,29	1,2

Dari hasil penelitian ini didapatkan bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* memiliki zona hambat terbesar terhadap bakteri patogen *S. aureus* hampir pada semua pengulangan, seperti yang disajikan pada Tabel 5 dan Gambar 14. Kemungkinan bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* mengandung senyawa aktif yang sama dengan inangnya yaitu flavonoid, seperti yang diungkapkan Sumarto

(2011), bahwa *Terebralia sulcata* mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid yaitu golongan pigmen organik yang tidak mengandung senyawa nitrogen. Hal ini didukung oleh pernyataan Pringgenies (2009) yang menjelaskan bakteri endosimbion mampu mensintesis senyawa yang sama dengan inangnya. Selanjutnya Sulifah (2014), menyebutkan bahwa flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar yang lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar sehingga flavonoid lebih mudah menghambat pertumbuhan *S. aureus* (gram positif) dari pada *E. Coli* (gram negatif). Berdasarkan hal tersebut diatas kemungkinan terbesar bakteri endosimbion dari *Terebralia sulcata* juga mengandung flavonoid seperti inangnya.

Dari hasil uji daya hambat pada setiap pengulangan diambil 2 isolat bakteri yang memiliki zona bening paling besar, sehingga didapatkan 6 isolat seperti yang disajikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Perbandingan zona hambat endosimbion terhadap *S. aures* dan *V. Alginoliticus*.

4.4 Karakter Morfologi Bakteri Endosimbion *Terebralia sulcata*

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 jenis gram dari bakteri endosimbion (gram positif atau gram negatif). Bakteri gram positif akan berwarna ungu setelah ditetaskan dengan kristal ungu 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, 2008).

Pengamatan koloni bakteri dilakukan secara langsung (visual) dengan parameter yang 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 spot (titik). Bentuk dari elevasi koloni yaitu datar, membukit, cembung dan cekung, sedangkan bentuk dari tepi koloni yaitu berbeah, utuh, bergerigi, dan berombak (Tabel 6).

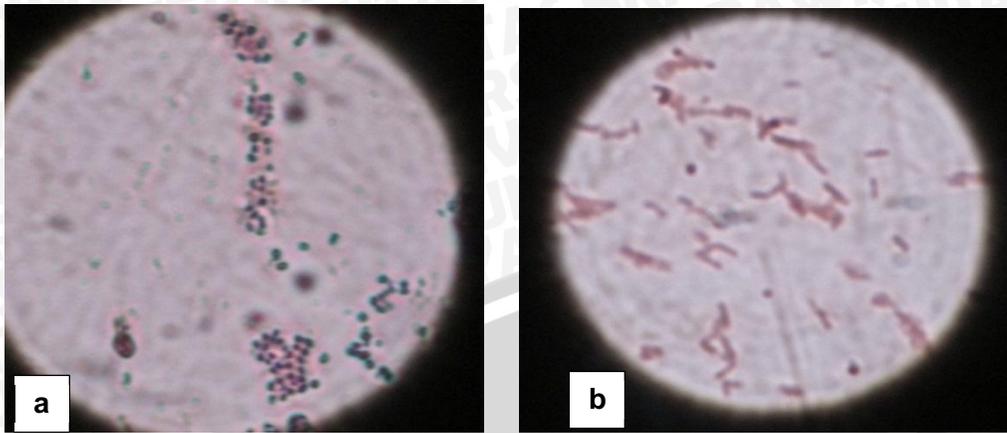
Tabel 6. Bentuk Morfologi koloni menurut Lisdayanti (2013)

NO	Bentuk	Elevasi	Tepi
1	 Circular Bulat	 Raised Naik	 Undulate Bergerigi
2	 Irregular Bunga	 Convex Melengkung	 Lobate Bebelah
3	 Filamentous Serabut	 Flat Datar	 Entire Utuh

Tabel 7. Hasil Pengamatan morfologi isolat terpilih

kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel	
	bentuk	tepi	elevasi	warna	Bentuk	Gram
I4-SA	Tidak teratur	Utuh	Datar	Putih Susu	Coccus	Negatif
I5-SA	Bulat	Utuh	Datar	Putih Susu	Bacill	Positif
I5-SB	Bulat	Utuh	Datar	Putih Susu	Coccus	Positif
U3-SB	Tidak teratur	Bebelah	Datar	Putih Susu	Coccus	Positif
I1-SC	Bulat	Utuh	Datar	Putih Susu	Bacill	Negatif
U5-SC	bunga	cabang	cekung	Putih Susu	Coccus	Positif

Dari hasil pewarnaan gram didapatkan 4 isolat bakteri merupakan gram positif seperti yang disajikan pada Tabel 7, dengan bentuk warna bakteri ungu seperti pada Gambar 17a. Pada penelitian ini juga ditemukan bakteri gram negatif dari 2 isolat yaitu isolat dengan kode I4SA dan I1SC dengan hasil pewarnaan merah seperti pada Gambar 17b. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Tortora dan Derrickson (2006) dalam Lisdayanti (2013), yang menyebutkan bakteri gram positif



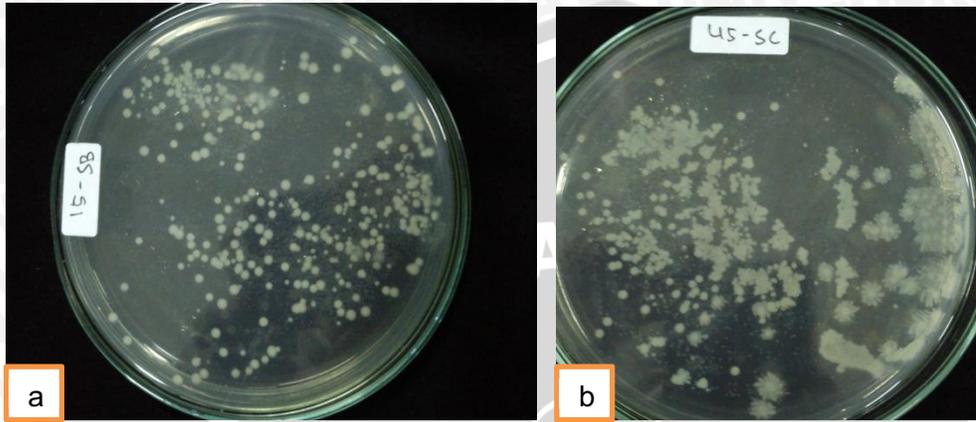
Gambar 17.a. Bakteri gram positif bentuk *coccus*, b. Bakteri gram negatif basil (kanan)

adalah bakteri yang memberi respon berwarna biru keunguan jika dilakukan uji pewarnaan gram, sedangkan gram negatif memberikan respon warna merah jika dilakukan uji pewarnaan gram (Tortora dan Derrickson, 2006) dalam (Lisdayanti 2013). Ditinjau dari segi bentuk sel, bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* terpilih memiliki bentuk *coccus* (bulat) sebanyak 4 isolat dan bentuk *bacil* (batang) sebanyak 2 isolat seperti pada Tabel 7, sehingga Dari hasil identifikasi morfologi sel sebagian besar bakteri endosimbion terpilih memiliki bentuk sel *coccus*

Menurut Lisdayanti (2013) kehadiran bakteri endosimbion *coccus* pada *Terebralia sulcata* disebabkan karena bakteri ini tidak memiliki alat gerak sehingga mempertahankan hidupnya dengan cara menempel pada organisme laut. Pernyataan tersebut didukung oleh Hutching dan Saenger (1987), menyebutkan bahwa kebanyakan bakteri *coccus* saling menempel atau terikat untuk membentuk permukaan yang kuat (solid) karena adanya bahan lendir sehingga sel-sel terlihat bersatu. Dengan cara ini bakteri dapat membentuk lapisan permukaan yang mengakibatkan bakteri dapat hidup pada hewan maupun tumbuhan laut.

Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan sebagian besar bakteri endosimbion memiliki bentuk bulat (Gambar. 18a), isolat U5SC berbentuk bunga (Gambar. 18b), dan 2 isolat memiliki bentuk tidak teratur. Hasil pengamatan bentuk

tepi menunjukkan sebgain besar bakteri endosimbion memiliki tepi utuh dan elevasi datar serta memiliki warna putih susu seperti yang disajikan pada Tabel 7 diatas.



Gambar 18. Bentuk morfologi koloni endosimbion a. bulat b. bunga

Dari hasil penelitian ini didapatkan range diameter zona bening terbesar pada waktu pengamatan 48 jam sebesar 1.88mm dan berasal dari isolat insang. Menurut Permadani *et al.* (2014), diameter zona bening tersebut masih dalam katagori lemah karena dibawah 5mm. Akan tetapi diameter zona hambat tersebut dapat ditingkatkan. Peningkatan zona hambat bakteri endosimbion *Terebralia sulcata* dapat dilakukan dengan menambah konsentrasi senyawa antibakteri dengan mengekstraksi senyawa aktif dari bakteri endosimbion tersebut seperti yang dilakukan Hermawan *et al.* (2012), yang mengekstrak senyawa aktif bakteri endosimbion Gastropoda *Oliva vidua*.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Bakteri Endosimbion dari *Terebrallia sulcata* memiliki potensi membunuh bakteri patogen *S. aureus* dan *V. alginolyticus* dengan zona bening terbesar terhadap *S. aureus* sebesar 1.88mm yang merupakan isolat yang diisolasi dari insang.
2. Bakteri Endosimbion dari *Terebrallia sulcata* memiliki sifat antibakteri bakteriostatik yang lebih dominan dari bakterisida.
3. Bakteri endosimbion dari *Terebrallia sulcata* memiliki bentuk sel dominan berupa coccus dan gram positif, sedangkan bentuk koloni bakteri endosimbion dari *Terebrallia sulcata* sebagian besar berbentuk bulat utuh dengan elevasi datar.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan pengulangan pada uji cakram untuk menguatkan hasil penelitian.
2. Perlu dilakukan metode lain seperti ekstraksi koloni bakteri dalam uji daya hambat untuk mendapatkan senyawa yang spesifik.
3. Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif dari bakteri endosimbion guna mengetahui senyawa yang dihasilkan dari metabolisme sekunder dari bakteri endosimbion *Terebrallia sulcata*.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi secara molekuler untuk mengetahui jenis spesies bakteri endosimbion *Terebrallia sulcata*.

DAFTAR PUSTKA

- Abubakar, H. 2009. Bakteri yang berasosiasi dengan Spons *Jaspis* Sp : analisis penghasil senyawa antimikroba dan keragaman Genetiknya. Sekolah Pasca Sarjana. ITB. Bogor
- Agung, 2005. Potensi Bakteri Simbion Luminisensi *Photobacterium phosphoreum* sebagai produsen antibakteri alam.. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro: Semarang.
- 2010. Potensi Bakteri Simbion Luminisensi *Photobacterium phosphoreum* sebagai produsen antibakteri alam. <http://mochamaduntungkurniaagung.blogspot.com/2010/04/potensi-bakteri-simbion-luminisensi.html>. Diakses 1 juni 2015
- Ahmad, F. 2014. Secondary Metabolism (Metabolisme Sekunder). http://www.academia.edu/9716638/Secondary_Metabolism_Metabolisme_Sekunder diakses 9 juni 2015
- Ali A., Hala Y., Darminto. 2007. Penapisan Karakterisasi Parsial Senyawa Anti Mikroba dari Siput Bakau *Terebralia sulcata* dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Aktif. Jurnal Penelitian Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makasar 12 (63-68).
- Connaughey, B., H. dan Zottoli, R. 1983. Pengantar Biologi Laut Terjemahan. Mosby. Amerika serikat
- Dewi, S.M., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak sargasum spp Dengan Pelarut Aseton Terhadap *Eschericila coli*, *Sthapylocosus aureus* dan *salmonella typhli*. Fakultas Perikanan dan ilmu kelautan Brawijaya: Malang.
- Fatimah, 2013. Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul Dan Gram. Sekolah tinggi ilmu kesehatan : Yogyakarta
- Hamdiyati, 2011. Pertumbuhan dan pengendalian mikroorganismepi.edu file.upi.edu/Direktori/.../Pertumbuhan_pada_mikroorganisme_II.pdf. diakses 30 mei 2015
- Hermawan A., Ridho A. Pringgenies. 2012. Uji Fitokimia dan Aktifitas Anti Bakteri Ekstrak Media Supernatan Bakteri Simbion *Vibrio* sp. Gastropoda *Oliva vidua* Terhadap Bakteri *Multi Drug Resistant*. Undip. Semarang.
- Harris, L.G., Foster. S.J., and Richards, R.G. 2002. *An Introduction Tostaphylococcus Aureus, And Techniques For Identifying And Quantifying. Aureusadhesins In Relation To Adhesion To Biomaterials:*

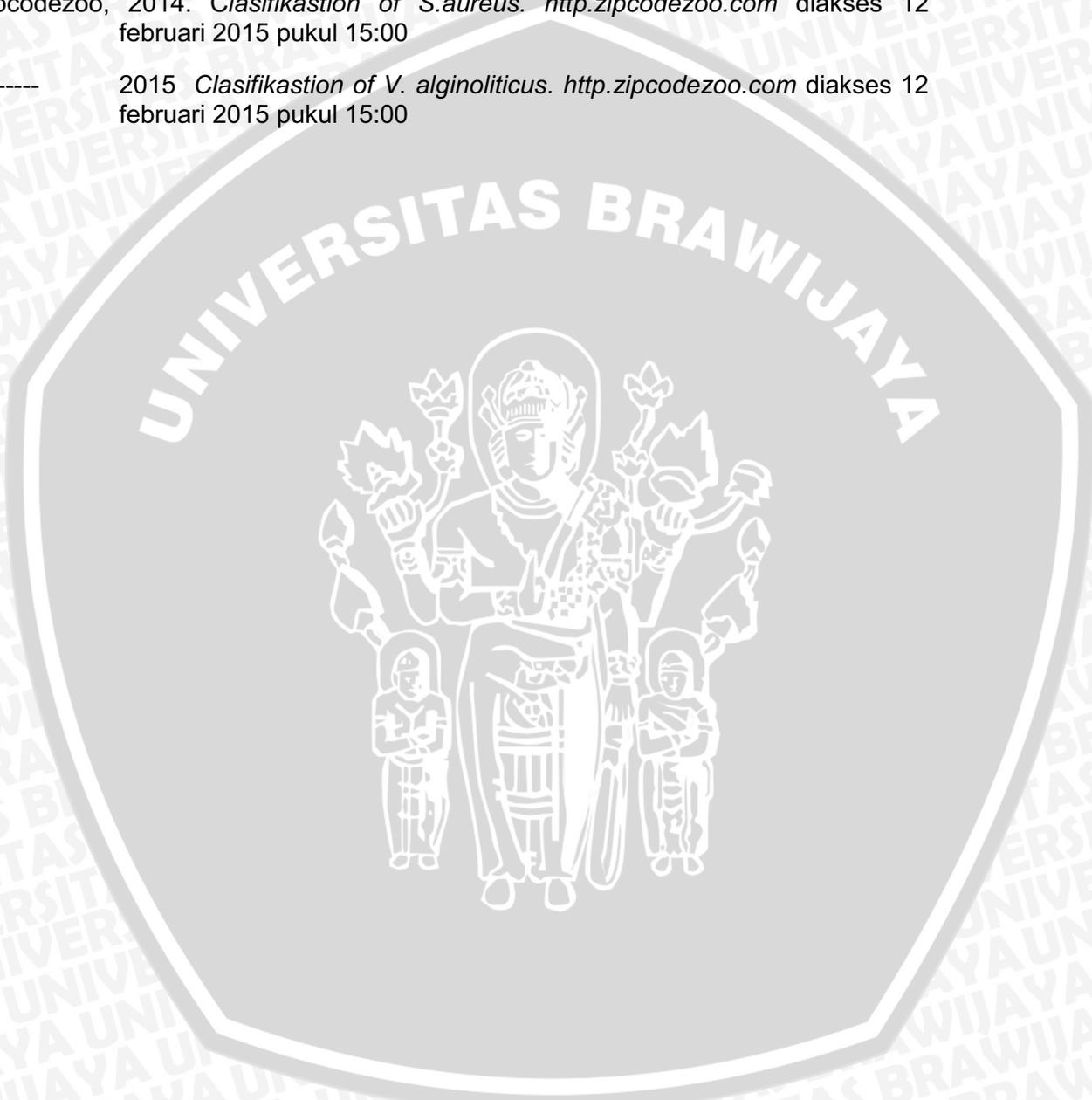
- Review. European Cells and Materials Vol. 4. University of Sheffield : UK
- Hutching, P. dan Saenger, P. 1987. Ecology of Mangrove Aus. Eco. Series. University of Queensland Press St Lucia, Queensland.
- Houbrick, R.S. 1991. *Systematic review and functional morphology of the mangrove snails Terebralia and Telescopium (Potamididae: Prosobranchia)*. Malacologia, 33(1-2):299-338.
- Jawetz. 2008. Mikrobiologi Kedokteran. EGC. Jakarta
- Julianti, 2013. Metode Isolasi Mikroorganisme Laut. Farmasi Institut Teknologi Bandung: Bandung
- Kusuma, S., 2009. Makalah Ilmiah Staphylococcus aureus. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran.
- Lidayanti. E., 2013. Potensi Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) Dari Pulau Bonebatang. Makassar: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Hasanuddin: Makassar
- Lestari. R., 2013. Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul Dan Gram. STIK : Yogyakarta
- Mahdiyah, D. Wahyudi, Aris T. Mukti, Bayu H., 2012. Isolasi Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons Jaspis Sp. Penghasil Enzim Protease. Volume 9, Nomor 1, Januari 2012, Halaman 1-7.
- Maridhi, D. 2012. mikrobiologi pangan kumpulan bahan kuliah mikrobiologi. <http://teckhnologyproductagricultural.com/2012/12/isolasi-pertumbuhan-mikroba.html> diakses pada 20 juni 2015
- marinespecies. 2015 Klasifikasi *Terebralia sulcata* <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=216724> dikases pada 6 juli 2015
- Melviani, 2010. *Efek Antibakteri Alfa Mangostin Mangosten Dan Kombinasinya Dengan Beberapa Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus multiresisten*. Universitas Muhamadiyah: Surakarta
- Mulyadi, M., Wuryanti dan Purbowatiningrum, R. 2013. *Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (Imperia clyindria) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram*. Chem info Vol 1, No 1, Hal 35-42. Universitas Diponegoro, Kimia: Semarang
- Nuraida, Lilis. 2010. Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Homofermentatif Isolat ASI. IPB. Bogor
- Nyibaken. J., w. 1994, Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologi. Gramedia: Jakarta

- Osinga, R., E. Armstrong., J.G. Burgess., F. Hoffman., J. Reitner and G. Schumann-Kindel. 2001. Sponge-microbe associations and their importance for sponge bioprocess engineering. *Hydrobiologi* , 461 : 55-62.
- Permadani, I., Surjowardojo P., dan Sarwiyono. 2014. Inhibition Of *Pluchea Indica* L. Leaves Extract With Ethanol Solvent To Growth Of *Staphylococcus aureus* And *Esherichia coli* That Caused Mastitis In Dairy Cattl. Brawijaya University. Malang
- Pringgenies, D. 2009. Bioprospeksi Bakteri Simbion Dari Gastropoda *Conus miles* Terhadap Strain Bakteri MDR(Multi Drug Resistant) jurnal Ilmu Kelautan Maret 2009 Vol. 14(1):42-49, Diponogoro : Unidip
- Purnobasuki, H. 2011. Struktur Sel bakteri . SKP Unair: Surabaya
- Reilly, G.D., Reilly, C. A. Smith, E. G. 2011. *Vibrio alginolyticus*-associated wound infection acquired in British waters. *Rapid communications: UK*
- Rizka, A. 2013. Skrining Bakteri Simbion Spons Asal Perairan Pulau Polewali Dan Pulau Sarappolompo Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia Dan Ikan. Universitas Hassanudin. Makassar.
- Sainjurnal. 2011. Mikrobiologi biomonitoring perairan. http://sainsjournal-fst11.web.unair.ac.id/artikel_detail-41250-MIKROBIOLOGI-Biomonitoring%20Perairan.html. diakses 4 juli 2015
- Setiabudi, R dan Gan V.H. 1995. Pengantar Anti Biotik dalam Farmatologi dan terapi, Edisi keempat. UI. Jakarta.
- Sumarto, Desmelati, D. Bustari, H. dan Azwar, M. 2011 Penentuan Senyawa Bioaktif Ekstrak Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata*) Dengan Kromatografi Lapis Tipis (Klt). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau: Sumatra
- Sularso, A. 2013 Isolasi dan Identifikasi Bakteri dominan Penyebab Kerusakan Pada Alga Merah *Euclima cottani* segar. Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan universitas Brawijaya: Malang
- Sulifah, U. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sargasum Spp. Dengan Pelarut Heksan Terhadap *Stahylocoocus aureus*, *Salmonella typhii* dan *Eschricia coli*. FPIK UB. Malang
- Sutedjo. 1991. Mikrobiologi Tanah . Rineka cipta : Jakarta.
- Volk dan Wheeler. 1990. Mikrobiologi Dasar. Jilid 2 edisi V diterjemahkan oleh Sumarto Adisumartono. Erlangga. Jakarta.
- Webber. H. H., dan Thurman, H., V. 1991. Marine Biologi second edition. Harper Collins publisher : USA

Wulandari, W. 2011. Uji Daya Hambat dari kombinasi bioaktif *Vibrio* sp. Yang berasosiasi dengan Sponge *Haliclona* sp. Dan *Geodia* sp. Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Shigela disentria*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UB: Malang

Zipcodezoo, 2014. *Clasifikastion of S.aureus*. <http://zipcodezoo.com> diakses 12 februari 2015 pukul 15:00

2015 *Clasifikastion of V. alginoliticus*. <http://zipcodezoo.com> diakses 12 februari 2015 pukul 15:00



LAMPIRAN

1. Perhitungan Media TSA

a. TSA pada cawan petri

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times \sum \text{Cawan} \times \text{volume cawan}$$

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times \sum 12 \times 20$$

$$\text{TSA} = 9.6 \text{ gram}$$

$$\sum \text{Akuades} = 12 \times 20 \text{ ml} = 240 \text{ ml}$$

b. TSA pada agar miring

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times \sum \text{tabung reaksi} \times \text{volume tabung reaksi}$$

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times \sum 12 \times 10$$

$$\text{TSA} = 9.6 \text{ gram}$$

$$\sum \text{Akuades} = 12 \times 10 \text{ ml} = 120 \text{ ml}$$

c. Perhitungan Media TSB

$$\text{TSB} = \frac{30}{1000} \times \sum \text{tabung reaksi} \times \text{volume tabung reaksi}$$

$$\text{TSB} = \frac{30}{1000} \times \sum 12 \times 10$$

$$\text{TSA} = 3.6 \text{ gram}$$

$$\sum \text{Akuades} = 12 \times 10 \text{ ml} = 120 \text{ ml}$$



2. Dokumentasi

a. Pengambilan Sampel



d. Pemisahan Usus dan Insang



Usus



insang

b. Pengukuran Sampel *Terebralia sulcata*



e. Sterilisasi



c. Pemisahan Cangkang



f. Penanaman



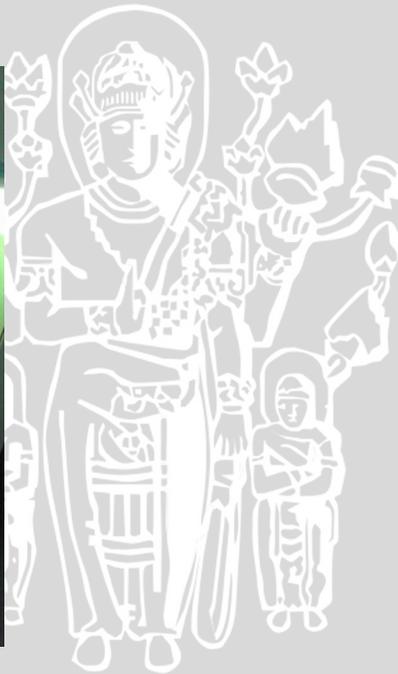
g. Uji Daya Hambat



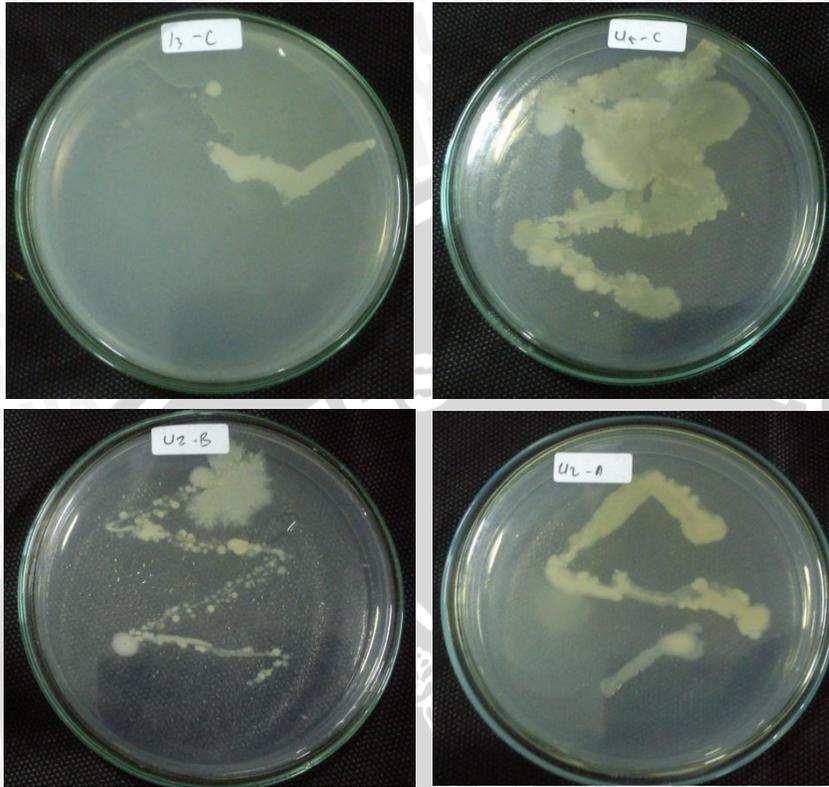
i. Pengamat Dengan Mikroskop



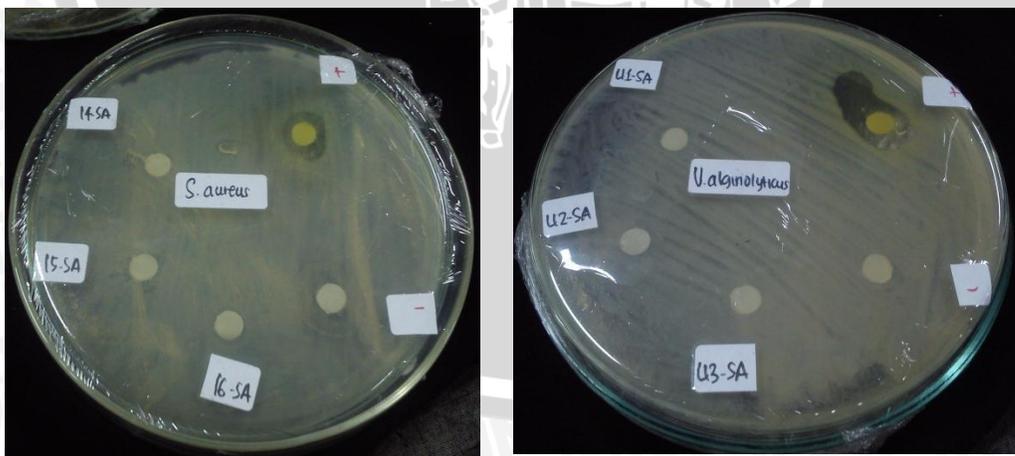
h. Pewarnaan Gram

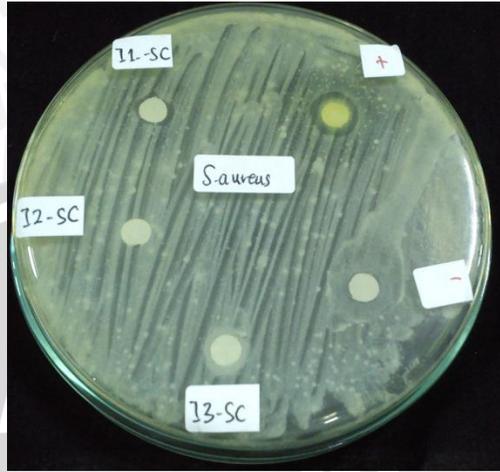
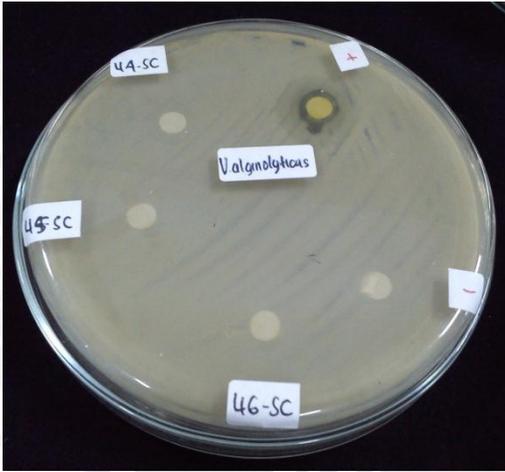


j. Hasil Penanaman



k. Hasil Uji Daya Hambat





I. Hasil Pewarnaan Gram

