

UJI POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION LAMUN *Thalassia hemprichii* DARI PANTAI BALEKAMBANG, KABUPATEN MALANG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

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

Oleh:

**MUHAMMAD YUSUFI ANANTA CAHYO NUGROHO
NIM. 1150806011183**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**



UJI POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION LAMUN *Thalassia hemprichii* DARI PANTAI BALEKAMBANG, KABUPATEN MALANG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

**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 :

**MUHAMMAD YUSUFI ANANTA CAHYO NUGROHO
NIM. 11508060111183**



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

UJI POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION LAMUN *Thalassia hemprichii* DARI PANTAI BALEKAMBANG, KABUPATEN MALANG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Oleh :

MUHAMMAD YUSUFI ANANTA CAHYO NUGROHO
NIM. 11508060111183

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 10 Juli 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 19611106 198602 2 001
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Citra Satrya Utama Dewi, S.Pi, M.Si)
NIK. 2013048401272001
Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Ade Yamindaqo, S.Kel, M.Sc., MP)
NIP. 19840521 200801 1 002
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

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

Mengetahui,

Ketua Jurusan PSPK

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

"Wahai orang-orang yang beriman. Apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-lapanglah dalam majelis", maka lapangkanlah. Niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu", maka berdirilah. Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan."

(QS: Al-Mujadalah 11)

"Barangsiapa merintis jalan mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga."

(HR. Muslim)

"Dengan ilmu, kita dapat menuju kepada kemuliaan"

(Ki Hajar Dewantara)

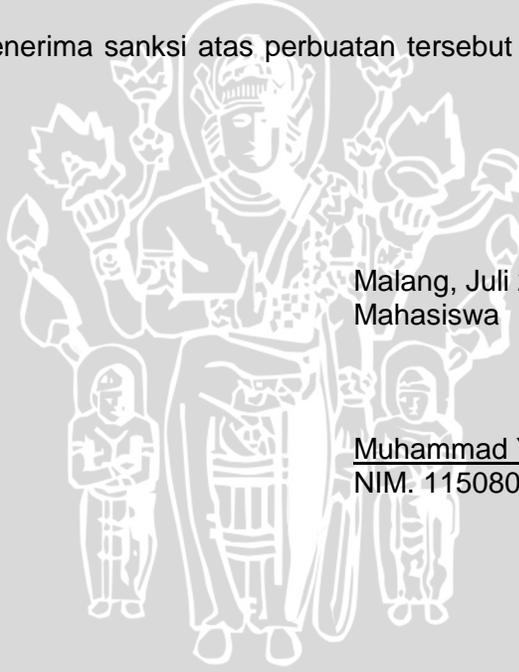
"Agama tanpa ilmu pengetahuan adalah lumpuh dan ilmu pengetahuan tanpa agama adalah buta"

(Albert Einstein)

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, Juli 2015
Mahasiswa

Muhammad Yusufi Ananta C N
NIM. 115080601111083

UCAPAN TERIMA KASIH

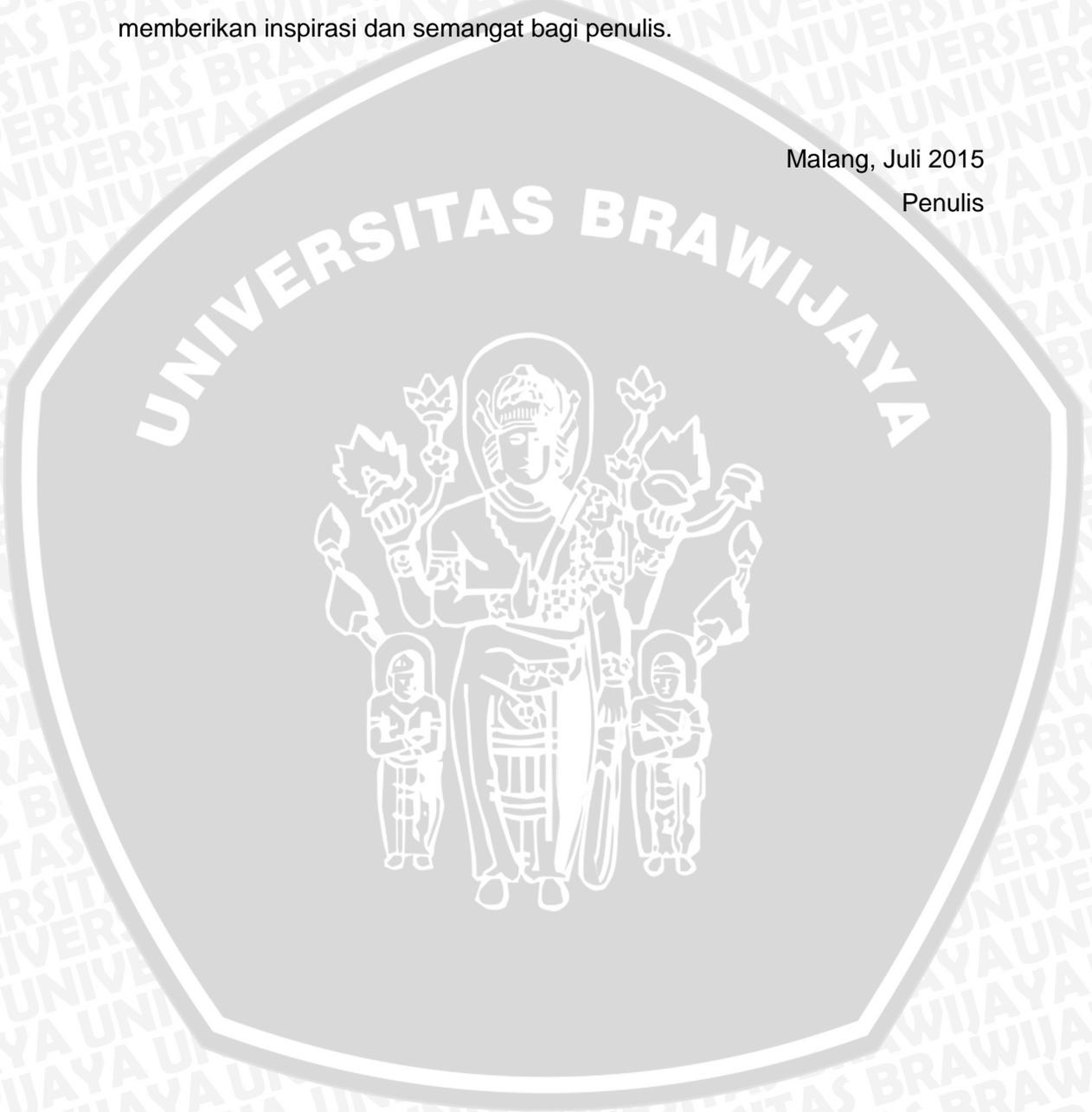
Penelitian Skripsi ini dari proses awal hingga penyusunan laporan ini tidak terlepas dari campur tangan berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang tiada henti memberikan jalan hingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi ini
2. Rasulullah SAW, manusia paling mulia di muka bumi ini yang telah membawa kami para umatnya menuju jalan kebenaran melalui ajaran Agama Islam
3. Orang tua tercinta Abdul Nasir Sukartak dan Nur Khotimah yang selalu memberikan doa dan semangat serta dukungan materi. Serta adik-adikku Faizal Dwi Ananta dan Fahrida Noor Anggraeni yang juga selalu memberikan semangat.
4. Bapak Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc., MP selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing 2 yang dengan sabar menghadapi penulis dalam menyusun laporan Skripsi ini
5. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen penguji 1 dan Citra Satrya Utama Dewi, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing 2 atas segala arahan dan saran yang membangun demi sempurnanya laporan skripsi ini.
6. Teman-teman Tim Penelitian, Lilik “Lilo” Arti Wahyuni, Maria Deswita Br Turnip dan Eri Sahabudin yang siang dan malam selalu bekerja sama dengan baik dalam melakukan penelitian dan selalu meluangkan waktunya untuk berdiskusi dan berbagi keluh kesah.
7. Sania Rizky Nur Ekaningtyas yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
8. Teman-teman Magelhaens 2011 yang sudah membantu baik secara moril maupun materi.
9. Laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboran Laboratorium Kemanana Hasil Perikanan dan Laboran Laboratorium Ilmu Kelautan

10. Seluruh civitas Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, khususnya civitas Jurusan Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan Kelautan dan bagian Akademik.
11. Para quoters dengan kata-kata bijak dan motivasi mereka sehingga selalu memberikan inspirasi dan semangat bagi penulis.

Malang, Juli 2015

Penulis



KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, Laporan Skripsi dengan Judul **“UJI POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOSIMBION LAMUN *Thalassia hemprichii* DARI PANTAI BALEKAMBANG, KABUPATEN MALANG TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*”** 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 potensi antibakteri dari bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* dari Pantai Balekambang serta morfologi sel dan koloninya, 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, Juli 2015

Penulis

RINGKASAN

MUHAMMAD.Skripsi tentang Uji Potensi Antibakteri Dari Bakteri Endosimbion Lamun *Thalassia hemprichii* Dari Pantai Balekambang, Kabupaten Malang Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* (dibawah bimbingan **Ade Yamindago** dan **Feni Iranawati**).

Skripsi dengan judul “Uji Potensi Antibakteri Dari Bakteri Endosimbion Lamun *Thalassia hemprichii* Dari Pantai Balekambang, Kabupaten Malang Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*” dilakukan pada periode bulan April-Mei 2015. Pengambilan sampel dilakukan di Pantai Balekambang, Kabupaten Malang sedangkan uji aktivitas antibakteri dan identifikasi morfologi koloni dan sel dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari penelitian skripsi ini adalah untuk mengetahui potensi dari aktivitas antibakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* dan mengetahui morfologi sel dan koloninya.

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 lamun *Thalassia hemprichii*, pengukuran parameter kualitas air, pembuatan media biakan, isolasi bakteri, pembuatan stok bakteri patogen, uji aktivitas antibakteri dan pengamatan morfologi koloni dan sel bakteri endosimbion.

Potensi antibakteri endosimbion ditunjukkan dengan adanya dua aktivitas, yaitu menghambat (bakteriostatik) yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat dan membunuh (bakteriosidal) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening dalam waktu inkubasi 48 jam. Zona bening yang terbentuk memiliki kategori yang lemah, yaitu kurang dari 5 mm dengan zona bening tertinggi sebesar 3,04 mm (isolat BT1 terhadap *Escherichia coli*). Sedangkan untuk zona hambat yang terbentuk juga memiliki kategori yang lemah dengan zona hambat tertinggi sebesar 4,80 mm (isolat BT2 terhadap *Escherichia coli*).

Bentuk morfologi koloni bakteri endosimbion didominasi oleh bentuk tepian utuh, elevasi rata dan berwarna putih susu. Sedangkan bentuk morfologi sel bakteri endosimbion didominasi adalah gram positif (+) dengan bentuk sel kokus.

DAFTAR ISI

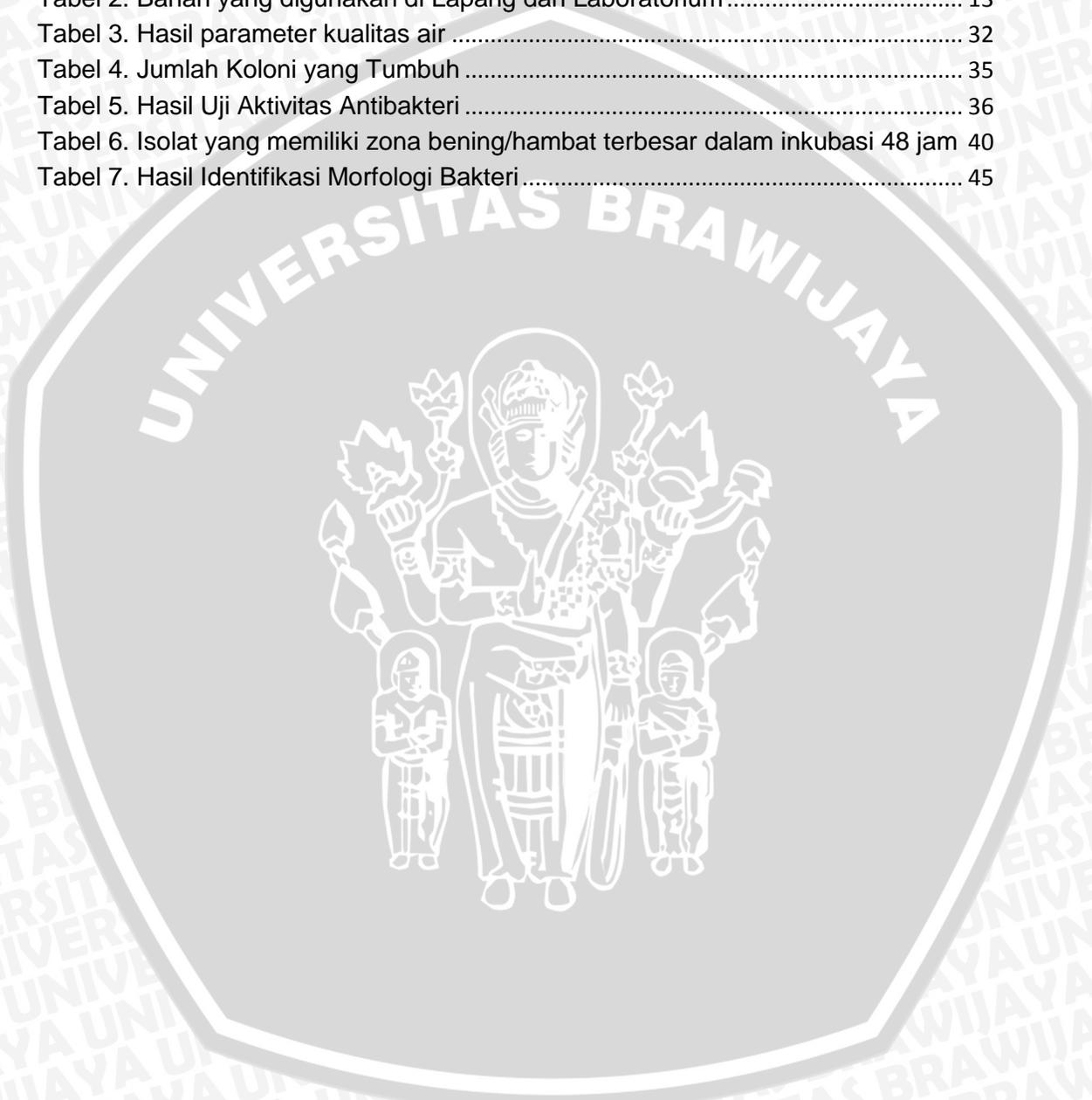
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Bioekologi Dan Klasifikasi <i>Thalassia hemprichii</i>	5
2.2 Bakteri.....	6
2.2.1 Morfologi Bakteri.....	6
2.2.2 Karakteristik dan Habitat Bakteri Laut.....	7
2.2.3 Bakteri Endosimbion.....	8
2.2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.5 <i>Escherichia coli</i>	9
3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Waktu dan Tempat.....	11
3.2 Alat dan Fungsi.....	11
3.3 Bahan dan Fungsi.....	13
3.4 Desain Penelitian.....	14
3.5 Metode Penelitian.....	15
3.5.1 Data Primer.....	15
3.5.2 Data Sekunder.....	16
3.6 Prosedur Penelitian.....	17
3.6.1 Penentuan Lokasi Penelitian.....	18

3.6.2	Pengambilan Lamun <i>Thalassia hemprichii</i>	18
3.6.3	Pengukuran Parameter Kualitas Air	18
3.6.4	Sterilisasi Alat dan Bahan	21
3.6.5	Pembuatan Sampel Lamun	22
3.6.6	Pembuatan Media Biakan	23
3.6.7	Isolasi Bakteri	25
3.6.8	Uji Antibakteri (Uji Daya Hambat)	29
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1	Parameter Kualitas Air	32
4.2	Isolasi Bakteri	33
4.3	Hasil Uji Daya Hambat	36
4.4	Mekanisme Antibakteri Endosimbion Lamun <i>Thalassia hemprichii</i>	41
4.5	Hasil Identifikasi Morfologi Bakteri	45
5.	PENUTUP	49
5.1	Kesimpulan	49
5.2	Saran	49
	DAFTAR PUSTAKA	50
	LAMPIRAN	53



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat yang digunakan di Lapang dan Laboratorium.....	11
Tabel 2. Bahan yang digunakan di Lapang dan Laboratorium.....	13
Tabel 3. Hasil parameter kualitas air	32
Tabel 4. Jumlah Koloni yang Tumbuh	35
Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	36
Tabel 6. Isolat yang memiliki zona bening/hambat terbesar dalam inkubasi 48 jam 40	
Tabel 7. Hasil Identifikasi Morfologi Bakteri.....	45

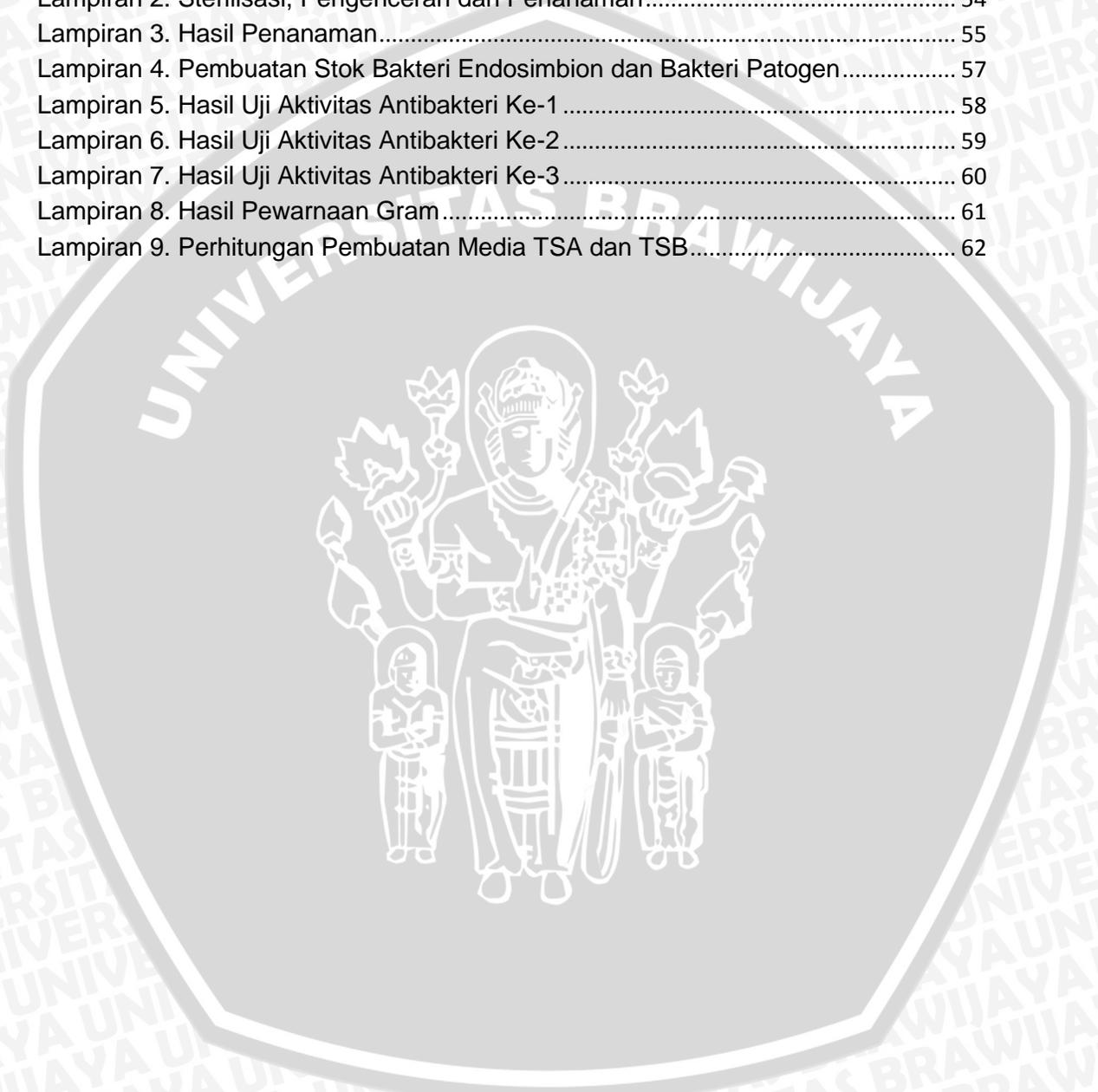


DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Thalassia hemprichii</i>	5
Gambar 2. Morfologi Sel Bakteri.....	6
Gambar 3. Morfologi Koloni Bakteri	7
Gambar 4. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 5. <i>Escherichia coli</i>	10
Gambar 6. Desain Penelitian	14
Gambar 7. Prosedur Kerja Penelitian	17
Gambar 8. Pengenceran Bertingkat.....	26
Gambar 9. Pemurnian Bakteri dalam Agar Miring	28
Gambar 10. Proses Uji Antibakteri dengan Metode Cakram	30
Gambar 11. Desain Uji Daya Hambat.....	31
Gambar 12. Letak Bakteri Endosimbion pada <i>Olavius ioisae</i> (annelida)	33
Gambar 13. Hasil Pengenceran Bertingkat	34
Gambar 14. Hasil Penanaman.....	35
Gambar 15. Hasil uji daya hambat.....	39
Gambar 16. Grafik Perbandingan Efektifitas Antibakteri Terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	41
Gambar 17. Sifat Antibakteri	45
Gambar 19. Hasil Morfologi Sel dengan Perbesaran 400X	46
Gambar 20. Morfologi Koloni Pada Isolat CS1 dengan Tepian Utuh, Elevasi Rata dan Berwarna Putih Susu	47
Gambar 21. Sterilisasi, Pengenceran dan Penanaman.....	54
Gambar 22. Penanaman Metode Tuang.....	55
Gambar 23. Penanaman Metode Sebar.....	56
Gambar 24. Stok Bakteri Endosimbion dan Patogen.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan lokasi, pengambilan sampel dan pengukuran kualitas air .	53
Lampiran 2. Sterilisasi, Pengenceran dan Penanaman.....	54
Lampiran 3. Hasil Penanaman.....	55
Lampiran 4. Pembuatan Stok Bakteri Endosimbion dan Bakteri Patogen.....	57
Lampiran 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-1	58
Lampiran 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-2	59
Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-3.....	60
Lampiran 8. Hasil Pewarnaan Gram.....	61
Lampiran 9. Perhitungan Pembuatan Media TSA dan TSB.....	62



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lamun (*seagrass*) merupakan tumbuhan berkeping tunggal dan termasuk dalam kelompok angiospermae. Lamun hidup melekat pada substrat di daerah intertidal, sehingga dapat digolongkan dalam organisme bentik (Kurniawan, 2010). Tomascik (1997) dalam Massinai *et al.* (2013) menjelaskan bahwa ekosistem padang lamun memberikan manfaat bagi organisme laut, khususnya organisme intertidal. Ekosistem padang lamun menyediakan banyak makanan dan oksigen yang dibutuhkan organisme sehingga padang lamun tergolong habitat yang produktif. Hal tersebut diatas yang menyebabkan organisme yang berada pada habitat lamun menjadi sangat beragam.

Bakteri merupakan salah satu organisme yang berada dalam habitat lamun. Ravikumar *et al.* (2010) dalam penelitiannya menemukan 32 isolat bakteri endosimbion dan epifit yang memiliki aktivitas antibakteri. Isolat-isolat tersebut adalah *Syringodium isoetifolium* dan *Cymodocea serrulata*. Aktivitas antibakteri dari bakteri endosimbion juga ditemukan oleh Massinai *et al.* (2013) yang menemukan sebanyak 53 isolat bakteri endosimbion dari lamun *Enhalus acoroides*, *Halophila ovalis*, *Cymodocea rotundata*, *Halodule uninervis* dan *Thalassia hemprichii*. Hampir semua jenis bakteri endosimbion hidup menetap pada inangnya dan tidak mampu bergerak secara bebas. Hal ini menyebabkan bakteri endosimbion lebih memilih untuk mengeluarkan senyawa metabolik sekunder sebagai sistem pertahanannya. Watermann (1999) dalam Sardiani *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa bakteri yang diisolasi dari tumbuhan menghasilkan bahan bioaktif memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Bakteri endosimbion tersebut

berguna bagi kehidupan manusia karena dapat dimanfaatkan sebagai antitumor, antikanker, antibakteri dan antifungi. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri endosimbion memiliki potensi yang besar dalam mekanisme pertahanan lamun itu sendiri.

Thalassia hemprichi adalah jenis lamun yang banyak ditemukan di Pantai Balekambang, Kabupaten Malang. Pantai Balekambang merupakan pantai wisata yang setiap hari dikunjungi oleh wisatawan dan merupakan pantai di Kabupaten Malang yang memiliki potensi rawan pencemaran, khususnya bakteri patogen. Meskipun kondisi perairan di Pantai Balekambang rawan akan pencemaran lingkungan, kondisi tutupan lamun *Thalassia hemprichii* di Pantai Balekambang berdasarkan survey dilapang tergolong cukup baik, yaitu sebesar 67%. Menurut Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Tahun 2004, kondisi tutupan lamun yang baik adalah diatas 60%. Kondisi tutupan lamun yang baik tersebut juga berdampak pada meningkatnya produktivitas primer pada ekosistem lamun di Pantai Balekambang sehingga organisme yang terdapat pada ekosistem lamun, khususnya bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* juga dapat tumbuh dengan baik (Kordi, 2011). Berdasarkan hal tersebut, maka dapat diasumsikan bahwa lamun *Thalassia hemprichii* di Pantai Balekambang mampu menghasilkan sistem metabolik sekunder terhadap gangguan dari luar, khususnya terhadap bakteri patogen.

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang berbahaya bagi manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif dan banyak ditemukan di udara bebas dan makanan yang tidak bersih, sedangkan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif dan banyak ditemukan pada air yang tercemar oleh limbah organik manusia (Lisdayanti, 2013).

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang memiliki

kemampuan *Multi Drug Resistance* (MDR), yaitu mekanisme pertahanan bakteri yang dapat menyebabkan berkurangnya selektivitas senyawa bioaktif terhadap resistensi bakteri patogen yang diakibatkan adaptasi bakteri patogen terhadap senyawa bioaktif tersebut (Dali *et al.*, 2011). Melki *et al.* (2011) menjelaskan telah banyak ditemukan obat maupun senyawa bioaktif dari bahan alami laut yang mampu untuk membunuh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, namun hal tersebut justru tidak baik jika digunakan dalam jangka waktu yang lama. Ali *et al.* (2006) menjelaskan bahwa senyawa bioaktif alami mempunyai manfaat yang sama dari bahan-bahan kimia tersebut dan lebih aman digunakan dalam jangka waktu yang lama, salah satunya adalah bakteri endosimbion dari *Thalassia hemprichii*.

Pengetahuan mengenai jenis-jenis bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Thalassia hemprichii* di Pantai Balekambang dan aktivitas antibakterinya masih belum tereksplorasi dengan baik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Thalassia hemprichii* dan juga untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan diatas maka ada dua pokok permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut.

- 1) Bagaimanakah potensi dari aktivitas antibakteri endisimbion lamun *Thalassia hemprichii* yang didapatkan dari Pantai Balekambang, Kabupaten Malang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
- 2) Bagaimanakah bentuk morfologi sel dan morfologi koloni dari bakteri yang memiliki potensi antibakteri?

1.3 Tujuan

Tujuan dari Penelitian Skripsi ini adalah sebagai berikut :

- 1) Mengetahui adanya potensi dari aktivitas antibakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* yang terdapat di Balekambang, Kabupaten Malang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- 2) Mengetahui morfologi sel dan morfologi koloni bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* dari Pantai Balekambang, Kabupaten Malang yang memiliki potensi antibakteri.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut

- 1) Memberi pengetahuan tentang aktivitas antibakteri endosimbion lamun *T. hemprichii* dan juga morfologi sel dan morfologi koloninya
- 2) Sebagai upaya yang berdampak tidak langsung untuk konservasi di Pantai Balekambang Kabupaten Malang
- 3) Sebagai referensi tambahan untuk pengobatan alternatif

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi Dan Klasifikasi *Thalassia hemprichii*

Berikut adalah klasifikasi lamun *Thalassia hemprichii* menurut Philips dan Menez (1988) dalam Latuconsina (2002).

Divisi : Anthophyta

Kelas : Monocotyledonia

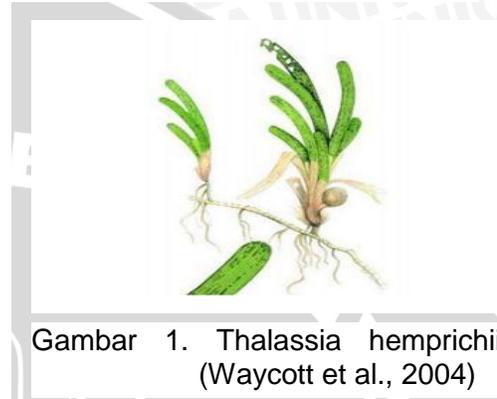
Ordo : Helobiae

Famili : Hydrocaritaceae

Subfamili : Vallisnerioideae

Genus : *Thalassia*

Spesies : *Thalassia hemprichii*



Gambar 1. *Thalassia hemprichii* (Waycott et al., 2004)

Menurut Fortes (1993) dalam Kordi (2011), *Thalassia hemprichi* merupakan tumbuhan laut yang memiliki ketebalan yang berkisar antara 1 – 4 mm dan panjang antara 3 – 6 cm. *T. hemprichii* mempunyai rhizoma yang berwarna coklat dan juga sebagian berwarna hitam. Pada setiap rizhoma terdapat 2 – 5 helai daun. *T. hemprichii* juga memiliki nodus yang tiap nodusnya ditumbuhi oleh satu akar yang memiliki rambut-rambut kecil. Waycott et al., (2004) menambahkan bahwa daun lamun berbentuk seperti selendang dan memiliki bentuk yang tegak. Ujung daun berbentuk tumpul dan bergerigi kecil.

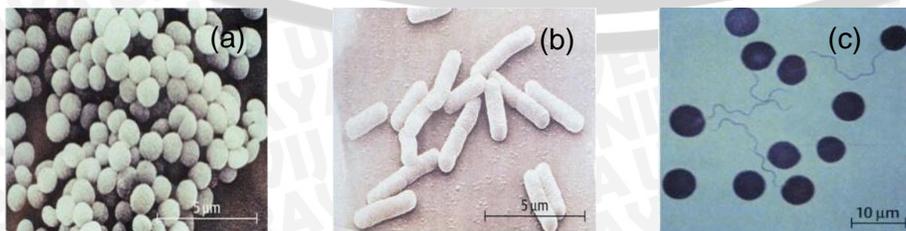
Thalassia hemprichii merupakan salah satu jenis lamun yang tumbuh di perairan tropik dan penyebarannya cukup luas. (Kordi, 2011). *Thalassia hemprichii* juga banyak ditemukan pada ekosistem terumbu karang dan juga ditemukan

tumbuh bersama vegetasi lain selain lamun. Philips dan Menez (1988) dalam Latuconsina (2002) menjelaskan bahwa habitat asli lamun berada pada kawasan intertidal dan kawasan pinggiran mangrove. Lamun *Thalassia hemprichii* dapat tumbuh dan berkembang dalam kondisi oksigen rendah yang merupakan sifat dari daerah pasang surut (intertidal) (Azkab, 2009). Hal ini dikarenakan lamun mempunyai strategi metabolik yang baik sehingga lamun dapat bertahan hidup dalam kondisi oksigen yang rendah (Romihmohtarto dan Juwana, 2007). Menurut Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Tahun 2004, kondisi lingkungan air yang sesuai dengan lamun adalah yang memiliki pH antara 5-9, suhu antara 15-35°C dan salinitas antara 32-37 ‰.

2.2 Bakteri

2.2.1 Morfologi Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal dan berukuran antara 0,5-1 µm dan lebar antara 0,5-2,5 µm (Buckle *et al.*, 1987 dalam Lidayanti, 2013). Bakteri memiliki sel yang terdiri dari membran dan sitoplasm dengan dinding sel yang dilapisi kapsula dan peptidoglikan serta lapisan lendir. Secara umum bakteri berkembang biak dengan cara pembelahan sel. Faktor lingkungan seperti suhu, O₂, CO₂, pH, nutrisi dan cahaya sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Bakteri mampu bergerak pada suatu cairan dengan menggunakan *flagella*. Gambar morfologi sel dan morfologi koloni dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Morfologi Sel Bakteri : (a) kokus, (b) basil dan (c) spiral

1. *Bentuk koloni; dilihat dari atas.*



2. *Permukaan koloni, dilihat dari samping.*



3. *Tepi koloni, dilihat dari atas.*



Gambar 3. Morfologi Koloni Bakteri (Dwidjoseputro, 2005)

2.2.2 **Karakteristik dan Habitat Bakteri Laut**

Salah satu karakteristik dari bakteri laut adalah mampu tumbuh dalam air yang mengandung garam (halofik). Ogenski dan Umbreit (1959) dalam Lisdayanti (2013) menjelaskan bahwa bakteri halofik dapat dibagi menjadi dua, yaitu bakteri halofilik moderat dan halofik ekstrim. Bakteri halofik moderat yaitu bakteri yang memerlukan 1% hingga 20% NaCl untuk tumbuh dan berkembang sedangkan bakteri halofilik ekstrim memerlukan lebih dari 15% hingga 31% NaCl.

Sebagian besar bakteri laut 95% merupakan gram negatif dan mampu bergerak dengan flagella. Tujuh puluh persen diantaranya memiliki pigmen dan mampu hidup pada kisaran suhu 15-70°C tetapi tidak mampu mentolelir suhu yang tinggi (Pelczar dan Chan, 2005). Bakteri tidak memiliki kompartemen nukleus (inti sel) sehingga diklasifikasikan ke dalam kategori prokaryot, sedangkan bakteri prokaryot juga dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu eubakteria dan archaeobakteria.

Menurut Sidharta (2000) faktor-faktor yang mempengaruhi penyebaran bakteri laut yaitu gerakan air laut, jarak dari pantai, kedalaman, cahaya matahari, iklim dan organisme lain. Selain itu, bakteri juga dipengaruhi oleh faktor-faktor abiotik dari lingkungan sekitarnya yaitu suhu, pH, salinitas, nutrient dan ketersediaan oksigen.

2.2.3 Bakteri Endosimbion

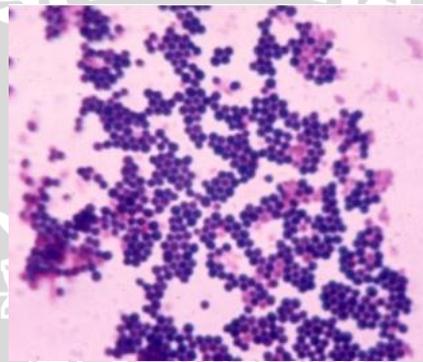
Bakteri endosimbion merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman dan sangat bermanfaat bagi organisme yang menjadi inangnya. Selain itu, bakteri endosimbion juga tidak berdampak negatif bagi lingkungan dan manusia. Hal ini dikarenakan bakteri endosimbion mampu untuk menghasilkan sistem pertahanan terhadap bakteri patogen yang merugikan (Radjasa *et al.*, 2007). Taylor *et al.* (2007) menemukan jenis bakteri yang berasosiasi dengan spons antara lain *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteriodes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadates*, *Nitrospira*, *Planctomycetes*, *Poribacteria*, *Proteobacteria*, *Sphirocahetes* dan *Verrumicrobia*. Untuk jenis lamun sendiri, Marhaeni (2010) menemukan beberapa jenis bakteri endosimbion yang berasosiasi dengan lamun yaitu *Pseudoaltermonas flavipulchra*, *Halobacillus litoralis*, *Vibrio campbelli*, *Bacillus flexus* dan *Bacillus carboniphilus*.

2.2.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif dan memiliki bentuk sel tersusun dalam bentuk bulat dan tidak teratur (Gambar 4). *S. aureus* merupakan salah satu bakteri toksik pada manusia dan dapat menyebabkan infeksi. *S. aureus* juga dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, seperti penyakit kulit, bisul,

hordeolum, bahkan masalah serius seperti pneumonia, mastitis, meningitis, dan infeksi saluran pernafasan dan kemih (Todar, 2011).

Secara umum, bakteri *S. aureus* telah tersebar luas didalam air dan udara bebas. Dengan kata lain, tidak ada faktor khusus sebagai indikator kemunculan bakteri *S. aureus*. Namun demikian, *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit pada organisme, khususnya manusia pada saat sistem imun organisme yang diserangnya berada pada kondisi yang lemah (Kusuma, 2009).

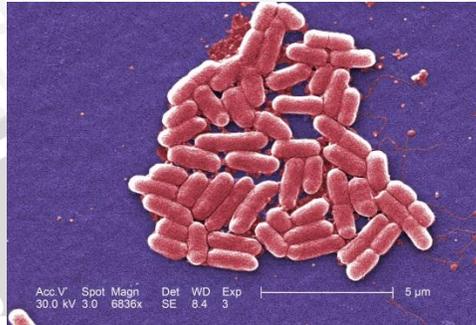


Gambar 4. *Staphylococcus aureus* (Rizka, 2013)

2.2.5 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif dan memiliki bentuk sel basil (Gambar 5). *E. coli* banyak ditemukan dalam saluran pencernaan manusia dan organisme lainnya. *Escherichia coli* dapat bersifat merugikan jika inang yang dihinggapinya bukan merupakan inang asal mereka. Infeksi *Escherichia coli* juga dapat terjadi dari memakan makanan yang belum matang, kontaminasi pada daging, maupun pada susu yang belum dipasteurisasi (Belk dan Maier, 2010). Bakteri *E. coli* dapat tumbuh pada air yang bukan merupakan habitat aslinya, seperti air sungai dan air laut. bakteri *E. coli* dapat

muncul di air dikarenakan oleh limbah tinja dan urin manusia yang tercemar dalam jumlah yang banyak (Pelczar dan Chan, 1988 dalam Anggraeni, 2012).



Gambar 5. *Escherichia coli* (Britannica, 2015)



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Mei 2015. Lokasi pengambilan sampel *Thalassia hemprichii* yaitu di Pantai Balekambang, Kabupaten Malang. Proses uji antibakteri dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Alat dan Fungsi

Jenis alat-alat yang digunakan beserta fungsinya dalam Penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan di Lapang dan Laboratorium

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Alat Selam Dasar	Snorkel Amscud, Masker Amscud, Fin Amscud	Pengamatan di lapang dan membantu dalam pengambilan sampel lamun
2	Kantung Sampel plastik	Ukuran 1 kg	Penyimpanan sampel lamun sebelum diamati di laboratorium
3	Gunting	Gunindo	Mengambil sampel lamun di lokasi penelitian
4	Kamera digital	<i>Casio Exilim 14 MP</i>	Dokumentasi
5	<i>Coolbox</i>	<i>Coleman</i>	Penyimpanan sampel lamun sebelum diamati di laboratorium
6	<i>GPS</i>	<i>GPS Garmin</i>	Penentuan titik koordinat pengambilan sampel lamun
7	<i>Secchi disk</i>	-	Pengukuran nilai kecerahan
8	pH meter	<i>Waterproof Oakion</i>	Pengukuran nilai pH
9	Salinometer	<i>Pocket Refrkatometer Atago</i>	Pengukuran salinitas
10	DO meter Digital	<i>Thermometer Dekko</i>	Pengukuran DO dan suhu
11	Beaker glass	Iwaki Pyrex 1000ml	Wadah bahan
13	Autoklaf	GEA 18 liter	Melakukan sterilisasi basah
14	Mortar dan Alu	-	Menghaluskan sampel lamun

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
15	Timbangan digital	-	Menimbang bahan dan sampel yang akan digunakan
16	Erlenmeyer	Volume 500, 800 dan 1000 ml	Wadah media dan bahan
17	Tabung Reaksi	15 x 150 mm	Wadah dalam melakukan pengenceran bertingkat
18	<i>Blue Tip</i>	-	Tempat mengambil larutan dalam mikro pipet
19	Toples kecil	-	Wadah sampel lamun
20	Mikro Pipet	-	Mengambil larutan dalam skala 0.1-1 ml
21	Pipet Volume	-	Mengambil larutan dalam skala 1 - 10 ml
22	Bola Hisap	-	Membantu pipet volume mengambil larutan
23	Gelas ukur	Pyrex Volume 50 ml	Mengukur volume larutan yang akan digunakan
24	<i>Triangle</i>	Panjang	Meratakan sampel saat menggunakan metode spread
25	Inkubator	-	Penyimpanan media pada suhu yang ditentukan
26	Ose Bulat	Steinless steel	Inokulasi dari media padat ke media padat
27	Cawan petri	CMSI, OD 60 mm, H 15 mm	Wadah penanaman mikroorganisme
28	<i>Washing Bottle</i>	Ukuran 200 ml	Wadah penyimpanan aquades
29	Sendok bahan	Panjang 15 cm	Mengambil bahan dalam ukuran kecil
30	<i>Object glass</i>	Sail Brand 26x76mm	Tempat pengamatan mikroba dengan mikroskop
31	<i>Cover glass</i>	<i>Focus</i> 24 x 24 mm	Menutup objek glass saat pengamatan dengan mikroskop
32	Pipet tetes	-	Mengambil larutan dalam skala kecil
33	Mikroskop	-	Pengamatan mikroorganisme
34	<i>Crucible tongs</i>	-	Memudahkan mengambil alat yang panas
35	<i>Vortex mixer</i>	-	Menghomogenkan secara otomatis
36	<i>Sprayer</i>	Volume 100 ml	Wadah alkohol 70%
37	Bunsen	Volume 150 ml	Sumber panas skala kecil dan pengondisian aseptis
38	Nampan	Ukuran 20cm x 20cm	Wadah alat dan bahan

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
39	<i>Hotplate</i>	-	Pemanas
40	<i>Laminary Air Flow</i>	-	Tempat pada saat proses inokulasi bakteri

3.3 Bahan dan Fungsi

Jenis bahan-bahan yang digunakan beserta fungsinya dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

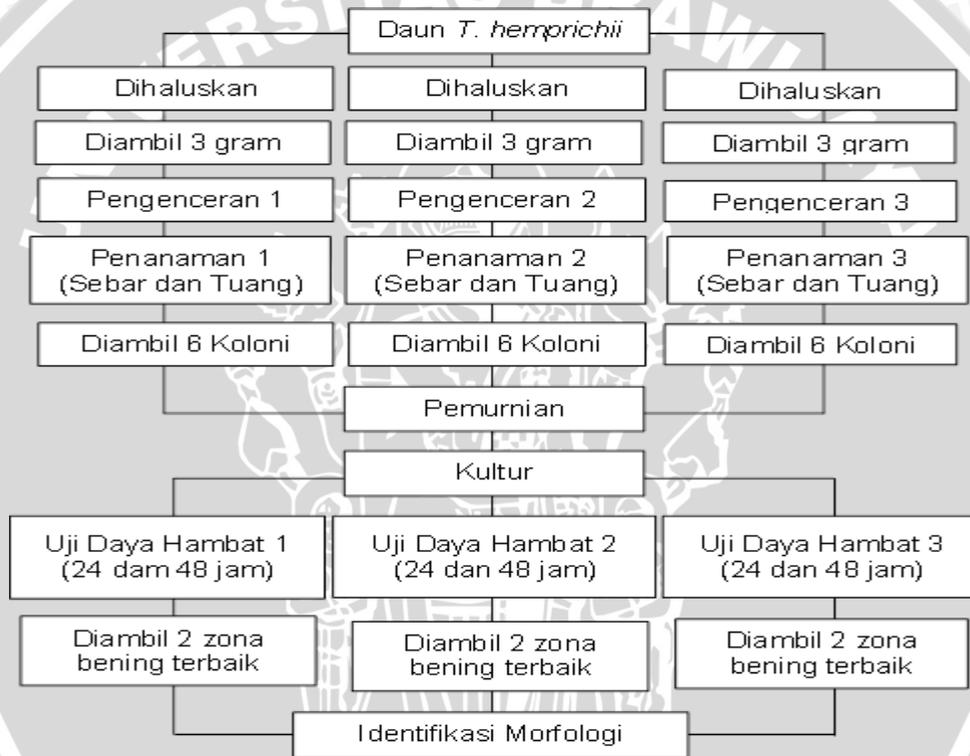
Tabel 2. Bahan yang digunakan di Lapang dan Laboratorium

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	<i>Tryptic Soy Agar (TSA)</i>	Oxoid 40 g/L	Media padat untuk menumbuhkan bakteri
2.	<i>Tryptic Soy Broth (TSB)</i>	Merck 30 g/L	Media cair untuk membiakkan bakteri
3.	Daun <i>Thalassia hemprichii</i>	-	Sampel yang akan diuji
4.	Aquades	Hidrobath pH 7	Pelarut dan penguat warna primer dalam pewarnaan gram
5.	Alkohol	70%	Pengondisian aseptis
6.	Kristal ungu	-	Pewarna primer
7.	Safranin	-	Pewarna sekunder
8.	Iodium	-	Penegas warna
9.	Air laut steril	-	Pengondisian dengan habitat asal dan larutan dalam pengenceran bertingkat
10.	Larutan McFarland	Nomor 0.5	Pembanding kepadatan bakteri dalam media cair
11.	Kapas	-	Menjaga dari kontaminan
12.	<i>Aluminium foil</i>	<i>Total Warp 7,6 m X 300 mm</i>	Membungkus alat
13.	Kertas Label	Cadwell 9 x 20 mm	Penanda
14.	<i>Tissue</i>	Montiss 2 ply	Mengeringkan alat yang basah
15.	Koran	-	Membungkus alat yang disterilisasi
16.	Tali	-	Mengikat alat
17.	Plastik	-	Membungkus cawan dan tabung reaksi saat disimpan dalam inkubator dan kulkas
18.	Spirtus	-	Bahan bakar Bunsen

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
19.	<i>Cotton swab</i>	-	Menggores bakteri ke media padat
20	<i>Wrap Plastic</i>	Total Warp 7,6 m X 300 mm	Membungkus alat

3.4 Desain Penelitian

Penelitian didesain seperti pada Gambar 6 dengan 3 kali pengulangan pada proses pengenceran, penanaman dan uji daya hambat.



Gambar 6. Desain Penelitian

Pada proses penanaman dilakukan 3 kali ulangan sebanyak 7 kali pengenceran (10^{-1} sampai 10^{-7}) dengan kode “1” untuk pengulangan ke-1, kode “2” untuk pengulangan ke-2 dan kode “3” untuk pengulangan ke-3. Pada proses penanaman juga dilakukan 3 kali ulangan dengan dua metode, yaitu Sebar dan Tuang. Untuk metode sebar diberi kode “S” dan untuk metode Tuang diberi kode

“T”. Hasil dari penanaman dipilih 6 koloni terpisah pada setiap ulangan. Pada proses uji daya hambat dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan kode “A” sebagai ulangan ke-1, kode “B” sebagai ulangan ke-2 dan kode “C” sebagai ulangan ke-3 dan kemudian diambil 2 isolat dengan zona bening erbesar pada setiap ulangannya. Isolat yang didapatkan kemudian diidentifikasi morfologi bakterinya.

3.5 Metode Penelitian

Metode Penelitian ini disajikan secara deskriptif yang bertujuan untuk menjelaskan suatu kejadian (Sugiyono, 2011). Data penelitian ini terdiri dari data primer dan data sekunder.

3.5.1 Data Primer

Data primer adalah data yang langsung diperoleh dari sumbernya diamati dan dicatat pertama kalinya. Data primer dalam penelitian ini yang didapat dari teknik observasi antara lain adalah :

a. Identifikasi lamun *Thalassia hemprichii*

Identifikasi sampel lamun mengacu pada buku Fortes (1993) dalam Kordi (2011). Pengawetan sampel dilakukan menggunakan alkohol 70% dengan cara memasukkan sampel lamun yang telah dicuci bersih ke dalam plastik berukuran sedang. Lamun yang diawetkan cukup 2-3 individu saja (Duwiri, 2010).

b. Pengukuran Parameter Kualitas Air

Bakteri laut sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor abiotik (fisika dan kimia) lingkungan sekitarnya. Faktor-faktor abiotik tersebut antara lain suhu, pH, kecerahan, salinitas, *Dissolved Oxygen* (DO), serta kandungan nitrat dan

fosfat. Faktor-faktor ini mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan mikroorganisme di perairan. Pengukuran parameter kualitas air yaitu suhu, pH, kecerahan, salinitas dan DO dilakukan secara insitu di lokasi pengambilan sampel.

c. Identifikasi Bakteri Endosimbion Lamun *Thalassia hemprichii*

Tumbuhan secara alami berhubungan dengan berbagai macam bakteri. Asosiasi tumbuhan dan bakteri membentuk koloni pada (rizobakteri), filofit (epifit) dan di dalam jaringan tumbuhan (endofit). Endofit terdapat di dalam jaringan tumbuhan sehingga terlindung dari pengaruh lingkungan dan kompetisi mikroba dari tumbuhan inang (Mano, 2007). Identifikasi bakteri asosiasi lamun ini dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode pewarnaan gram.

d. Uji Potensi Antibakteri

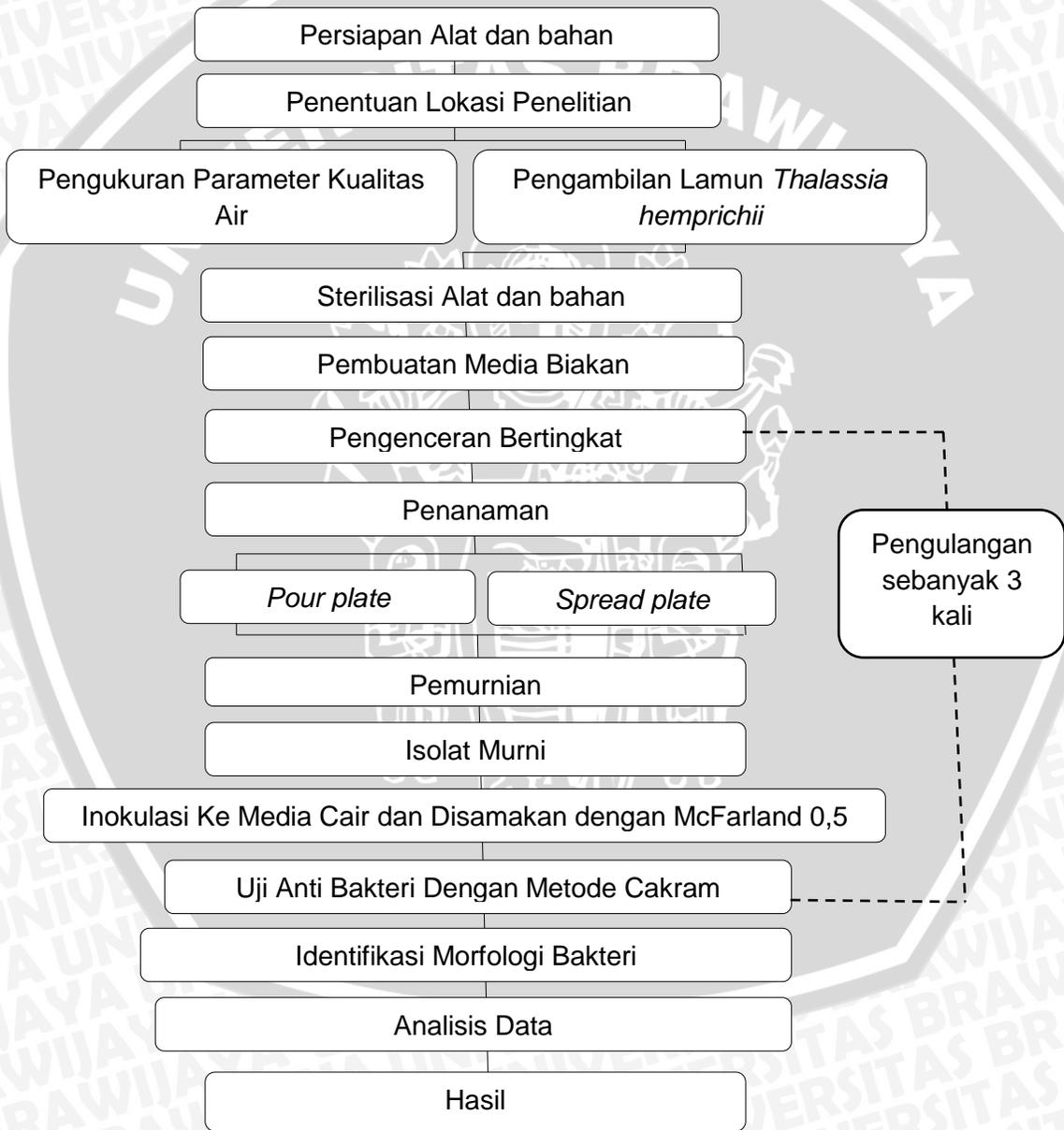
Uji potensi antibakteri dimaksudkan untuk mengetahui potensi antibakteri dari bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Uji potensi antibakteri dalam penelitian ini menggunakan ujiantang (antagonitas) yaitu uji cakram.

3.5.2 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. Data sekunder dalam penelitian ini adalah data yang didapatkan melalui studi literatur dari buku ilmiah, laporan praktik kerja lapang, skripsi dan jurnal ilmiah. Selain itu juga didapatkan melalui situs internet.

3.6 Prosedur Penelitian

Prosedur dalam penelitian ini mengacu pada Lisdayanti (2013) yang telah dimodifikasi. Prosedur penelitian dimulai dari menyiapkan alat dan bahan sampai dengan analisis data. Untuk lebih jelasnya, prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Prosedur Kerja Penelitian

3.6.1 Penentuan Lokasi Penelitian

Penentuan stasiun pengamatan dilakukan dengan cara menjelajah untuk mengetahui keadaan dan lokasi lapang secara umum, sehingga dengan mengetahui keadaan dan lokasi lapang maka dapat ditentukan letak pengambilan sampel lamun *Thalassia hemprichii*. Stasiun pengamatan didasarkan pada daerah dimana terdapat spesies *Thalassia hemprichii* yaitu dengan menarik garis vertikal 5 meter dari bibir pantai pada saat surut (Lampiran 1).

3.6.2 Pengambilan Lamun *Thalassia hemprichii*

Pengambilan sampel lamun dilakukan menggunakan peralatan selam dasar (snorkeling). Pengambilan sampel lamun dilakukan secara acak (*random sampling*) di Pantai Balekambang, Kabupaten Malang. *Random sampling* adalah teknik pengambilan sampel dengan memberi kesempatan yang sama untuk diambil kepada setiap elemen populasi. Pengambilan sampel lamun dilakukan dengan cara mengambil lamun yang utuh dan dalam kondisi yang baik dengan menggunakan gunting, kemudian masukkan lamun ke dalam toples yang berisi air laut (Lampiran 1).

3.6.3 Pengukuran Parameter Kualitas Air

Parameter yang diukur meliputi kecerahan, suhu, sinitas, pH dan DO (*Dissolved oxygen*). Tujuan dari analisa kualitas air adalah untuk mengetahui kondisi lingkungan perairan yang mempengaruhi keberadaan bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* (Lampiran 1).

- Suhu

Prosedur pengukuran suhu adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan Alat dan Bahan yang akan digunakan, kemudian mengkalibrasi sensor Thermometer digital dengan aquades agar stabil hingga menunjukkan angka nol. Hal ini bertujuan agar data suhu yang didapatkan lebih valid.
- 2) Memasukkan sensor Thermometer digital hingga tergenang air dan ditekan tombol on/off.
- 3) Menunggu beberapa saat hingga menunjukkan angka suhu yang stabil, kemudian mencatat hasilnya

➤ **Salinitas**

Prosedur pengukuran salinitas adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian mengkalibrasi sensor salinometer dengan aquades hingga menunjukkan angka nol. Hal ini bertujuan agar data salinitas yang didapatkan tidak terkontaminasi dengan data salinitas pada pemakaian sebelumnya.
- 2) Mengambil sampel dengan pipet tetes dan meletakkan di atas sensor hingga penuh, kemudian menekan tombol on/off dan ditunggu beberapa saat kemudian tekan tombol start
- 3) Menunggu beberapa menit hingga menunjukkan angka kadar salinitasnya, kemudian mencatat hasilnya.

➤ **pH**

Prosedur pengukuran pH adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian mengkalibrasi sensor pH meter dengan aquades agar stabil hingga menunjukkan angka nol. Hal ini bertujuan agar data pH yang didapatkan lebih valid.
- 2) Menyelupkan sensor pH meter hingga tergenang air dan menunggu berapa menit hingga muncul angka pH meter di layar digital kemudian tekan hold

➤ **Dissolved Oxygen (DO)**

Prosedur pengukuran DO adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian mengkalibrasi sensor DO meter dengan aquades hingga stabil dan menunjukkan angka 20,9 mg/L
- 2) Menyelupkan sensor DO meter hingga tergenang air dan ditunggu beberapa menit hingga stabil kemudian menyatat hasilnya.

➤ **Kecerahan**

Prosedur pengukuran kecerahan adalah sebagai berikut.

- 1) Memasukkan secchi disk kedalam perairan hingga batas tidak tampak pertama kali, kemudian ditandai dan menyataatnya sebagai d1
- 2) Memasukan secchi disk kembali ke dalam perairan dan mengangkatnya secara perlahan-lahan hingga batas tampak pertama kali dan menyataatnya sebagai d2
- 3) Menghitung nilai kecerahan dengan rumus $D = (d1+d2) / 2$

3.6.4 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan merupakan hal pertama yang harus dilakukan sebelum mengisolasi bakteri. Sterilisasi bertujuan untuk membebaskan alat-alat dan bahan-bahan dari segala macam bentuk kehidupan, terutama mikroba (bakteri, fungi, protozoa, virus). Proses sterilisasi alat dan bahan yang dilakukan pada kegiatan penelitian ini adalah dengan menggunakan autoklaf (lampiran 2).

➤ **Cawan Petri**

Cawan petri merupakan tempat untuk membiakkan bakteri. Oleh karena itu, cawan petri harus dalam keadaan steril dari pengaruh mikroorganisme sehingga akan mengurangi dampak kontaminasi pada saat pembiakan bakteri. Prosedur kerja sterilisasi cawan petri adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan cawan petri yang akan digunakan dan kemudian membersihkannya dengan air dan sabun, kemudian mengeringkan dengan tissue. Setelah kering, kemudian membungkus cawan petri dengan kertas koran dan mengikatnya dengan tali.
- 2) Memasukkan cawan petri kedalam autoklaf dan mensterilisasi cawan petri dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian mengambil dari autoklaf dan memasukkan cawan petri kedalam etalase untuk dikeringkan

➤ **Blue Tip**

Salah satu alat yang digunakan dalam proses inokulasi adalah *blue tip*. *Blue tip* digunakan sebagai alat bantu inokulasi bakteri dari media cair ke padat/cair

dengan menggunakan mikro pipet dan harus selalu dalam kondisi steril. Proses sterilisasi *blue tip* adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan *blue tip* yang akan digunakan dan kemudian membersihkannya dengan air dan sabun, kemudian mengangin-anginkannya sampai kering. Setelah kering, kemudian memasukkan *blue tip* kedalam *beaker glass*. Kemudian menutup dengan *wrap plastic* dan *alumunium* dan mengikatnya dengan tali.
- 2) Memasukkan *beaker glass* yang sudah berisi *blue tip* tersebut kedalam autoklaf dan mensterilisasinya dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian mengambil dari autoklaf dan ditunggu sampai kering.

➤ **Air Laut**

Pada saat proses pengenceran, air laut steril bertujuan sebagai larutan pengencer. Skema kerja sterilisasi air laut dapat dilihat dalam skema kerja dibawah ini.

- 1) Mengambil air laut sebanyak 250 ml dan memasukkan kedalam Erlenmeyer
- 2) Menutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan alumunium foil, kemudian menutupnya dengan kertas Koran dan mengikatnya dengan tali
- 3) Memasukkan kedalam autoklaf dan mensterilisasi dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian mengambil dari autoklaf dan memasukkannya kedalam etalase untuk dikeringkan

3.6.5 Pembuatan Sampel Lamun

Pembuatan sampel lamun dilakukan sebelum proses pengenceran bertingkat (Lampiran 2). Sampel lamun yang sudah dibersihkan ditimbang sebanyak 5 gram

dan dimasukkan kedalam mortal. Setelah itu sampel dihaluskan dengan alu. Setelah halus, sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi pengenceran 10^{-1} . Berikut skema kerja pembuatan sampel lamun.

- 1) Membersihkan daun *Thalassia hemprichii* dengan air kran dari kotoran dan alga yang menempel, kemudian membersihkan dengan air laut steril dan alkohol 70%.
- 2) Menimbang sebanyak 3 gram dan memasukkan kedalam mortal untuk dihaluskan sampai halus, kemudian memasukkannya kedalam tabung reaksi pengenceran bertingkat 10^{-1} untuk diencerkan.

3.6.6 Pembuatan Media Biakan

Media biakan merupakan salah satu faktor penting dalam proses isolasi bakteri. Hal ini dikarenakan media merupakan satu-satunya nutrient/makanan bakteri pada saat isolasi. Media biakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Tryptic Soy Agar (TSA)* dan *Tryptic Soy Broth (TSB)* (Lampiran 2).

➤ **Tryptic Soy Agar (TSA)**

Media padat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Tryptic Soy Agar* atau TSA. Dalam penelitian ini, komposisi TSA perliter aquades terdiri dari 15 gram tripton, 5 gram soy pepton, 5 gram NaCl dan 15 gram agar. Berikut adalah prosedur kerja pembuatan media TSA.

- 1) Menimbang media TSA
- 2) Memasukkan kedalam Erlenmeyer yang sudah berisi akuades, kemudian merebus media diatas *hotplate* dengan suhu 250°C sambil menghomogenkan dengan spatula sampai media matang

- 3) Menutup mulut Erlenmeyer dengan kapas dan alumunium foil, kemudian menutupnya dengan kertas Koran dan mengikatnya dengan tali
- 4) Memasukkan kedalam autoklaf dan menyeterilisasi dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit
- 5) Mengambil Erlenmeyer dengan *crushable* tong dan mendekatkan erlenmeyer dengan Bunsen, kemudian menuangkan media dengan segera kedalam cawan petri steril agar tidak memadat sebelum digunakan

➤ ***Tryptic Soy Broth (TSB)***

Tryptic Soy Broth (TSB) merupakan media cair yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dalam bentuk cair. Komposisi TSB per liter aquades terdiri dari 17 gram casein pepton, 3 gram soya, 5 gram NaCl, 2,5 gram glukosa, dan 2,5 gram dipotasium. Prosedur kerja pembuatan media TSB adalah sebagai berikut.

- 1) Menimbang media TSB sebanyak yang dibutuhkan
- 2) Memasukkan kedalam Erlenmeyer yang sudah akuades, kemudian merebus media diatas *hotplate* dengan suhu 250°C sampai media matang sambil menghomogenkan dengan spatula
- 3) Menuangkan media kedalam tabung reaksi masing-masing 10 ml dengan bantuan corong
- 4) Menutup mulut tabung reaksi dengan kapas dan *alumunium foil*, kemudian menutup dengan kertas Koran dan mengikatnya dengan tali
- 5) Meletakkan tabung reaksi kedalam rak tabung dan memasukkannya kedalam autoklaf, kemudian menyeterilisasi dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit

- 6) Mengambil media dengan *crushable tongs* dan diletakkan dalam suhu ruang sampai media dingin.

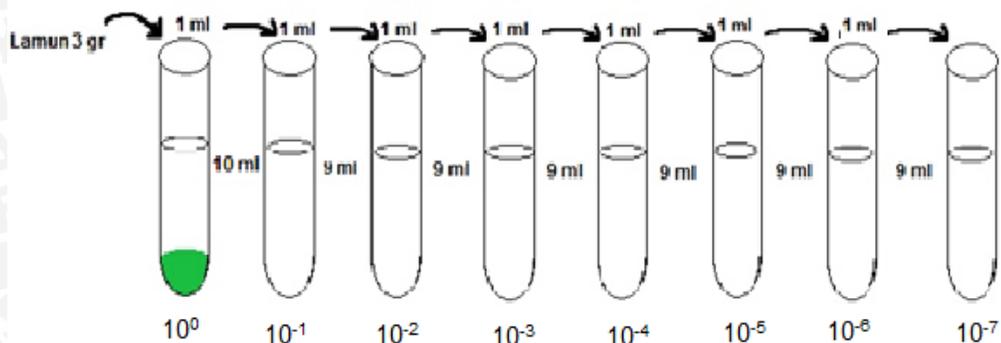
3.6.7 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan metode untuk membiakkan bakteri. Proses isolasi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengenceran, penanaman, pemurnian (purifikasi) dan kultur bakteri.

➤ Pengenceran Bertingkat

Pengenceran bertingkat dilakukan untuk memisahkan bakteri dengan substratnya sehingga bakteri mudah untuk ditanam (lampiran 2). Selain itu juga untuk mengurangi jumlah kepadatan bakteri sehingga akan memudahkan untuk mendapatkan bakteri murni. Berikut adalah prosedur kerja dari pengenceran bertingkat.

- 1) Menyiapkan 8 buah tabung reaksi dan diberi label 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} (Gambar 8)
- 2) Memasukkan 10 ml air laut steril kedalam tabung 10^0 dan 9 ml kedalam tabung reaksi yang lainnya
- 3) Memasukkan 3 gram sampel lamun yang telah dihaluskan kedalam tabung reaksi 10^{-1} dan dihomogenkan dengan *vortex mixer*
- 4) Mengambil 1 ml sampel dari tabung reaksi 10^0 dengan mikro pipet. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi 10^{-1} . dan dihomogenkan dengan *vortex mixer*.
- 5) Mengulangi prosedur tersebut sampai tabung reaksi 10^{-7}



Gambar 8. Pengenceran Bertingkat

➤ **Penanaman**

Penanaman bakteri dalam penelitian ini terdiri dari 2 metode, yaitu metode tuang (*pour plate*) dan metode sebar (*spread plate*) (lampiran 2 dan 3). Metode tuang dilakukan dengan memasukkan sampel pengenceran terlebih dahulu kemudian memasukkan media biakan. Sedangkan metode sebar dilakukan dengan cara memasukkan sampel pengenceran setelah media biakan memadat kemudian menyebarkannya dengan bantuan *triangle*. Penanaman ini dilakukan pada media padat *Tryptic Soy Agar* atau TSA. Prosedur kerja penanaman dapat dilihat dibawah ini.

➤ **Metode Sebar (*spread plate*)**

- 1) Menuang media TSA steril kedalam cawan petri steril dan menunggunya hingga memadat
- 2) Mengambil 0,1 ml sampel dari pengenceran bertingkat dan meneteskan kedalam cawan petri, kemudian meratakannya dengan bantuan *triangle*
- 3) Memasukkan kedalam kantong plastik dan merekatkan dengan selotip

- 4) Menginkubasi didalam inkubator selama 2x24 jam dalam suhu $27^{\circ} - 30^{\circ}$ C dan mengamati bakteri yang tumbuh setiap 1X24 jam.

➤ Metode Tuang (*pour plate*)

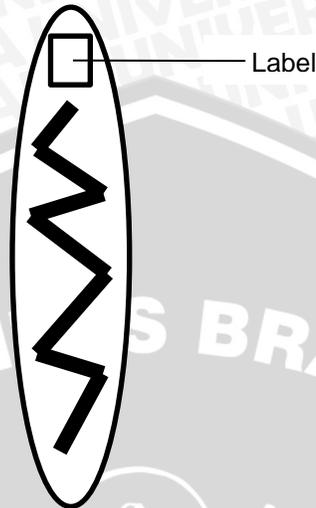
- 1) Mengambil 1 ml sampel dari masing-masing tabung reaksi dan meneteskan kedalam cawan petri menurut pengenceran masing-masing, kemudian menuangkan media TSA dan menghomogenkan secara perlahan dengan pola angka 8 agar homogen hingga media memadat
- 2) Memasukkan kedalam kantong plastik dan merekatkan dengan selotip
- 3) Menginkubasi didalam inkubator selama 2x24 jam dalam suhu $27^{\circ} - 30^{\circ}$ C dan mengamati bakteri yang tumbuh setiap 1X24 jam

➤ Pemurnian

Pemurnian (purifikasi) bakteri bertujuan untuk mendapatkan bakteri yang lebih murni (*pure*), sehingga bakteri yang tumbuh merupakan koloni dengan satu jenis bakteri saja. Pemurnian bakteri akan memudahkan dalam proses identifikasi bakteri. Pemurnian ini dilakukan dalam media agar miring menggunakan media padat *Tryptic Soy Agar* atau TSA dengan cara menggores bakteri (Radjasa *et al.*, 2003). Prosedur kerja pemurnian dapat dilihat dalam skema kerja berikut ini.

- 1) Memijarkan jarum ose diatas Bunsen
- 2) Menginokulasikan satu koloni dari cawan penanaman dengan jarum ose
- 3) Menggoreskan jarum ose secara zig-zag ke dalam media agar miring yang berisi media TSA yang telah memadat (gambar 9).
- 4) Menutup mulut tabung reaksi dengan kapas dan *wrap plastic*

- 5) Menginkubasi selama 2X24 jam dalam suhu 27^o – 30^oC



Gambar 9. Pemurnian Bakteri dalam Agar Miring

➤ Kultur Bakteri

Kultur bakteri dilakukan dengan tujuan untuk memperbanyak koloni bakteri yang telah dimurnikan (purifikasi) (Lampiran 4). Kultur bakteri juga akan memudahkan dalam membuat stok bakteri. Dalam penelitian ini, kultur bakteri dilakukan di media cair, yaitu *Tryptic Soy Broth* atau TSB. Prosedur kerja kultur bakteri adalah sebagai berikut.

- 1) Memijarkan jarum ose di atas Bunsen dan menginokulasikan bakteri ke dalam tabung reaksi yang telah berisi media TSB steril
- 2) Menghomogenkan dengan vortex mixer dan membandingkan kepadatan dengan larutan McFarland 0,5 (Ravikumar *et al.*, 2010)
- 3) Menutup mulut tabung reaksi dengan kapas dan alumunium foil, kemudian membungkusnya dengan plastik dan mengikatnya dengan tali

- 4) Menginkubasi selama 2X24 jam dengan suhu 27°C

➤ **Identifikasi Bakteri**

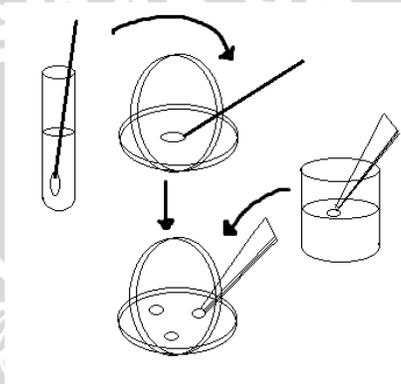
Dalam penelitian ini, proses identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan gram. Tujuan dari pewarnaan gram ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri gram negatif dan gram positif. Bakteri gram negatif akan memiliki warna merah, sedangkan bakteri gram positif akan berwarna biru/ungu. Prosedur kerja pewarnaan gram adalah sebagai berikut.

- 1) Menyiapkan isolat murni
- 2) Memijarkan jarum ose di atas Bunsen dan mengoleskan bakteri dari cawan petri pada obyek glass, kemudian memfiksasi di atas Bunsen
- 3) Meneteskan kristal ungu dan menunggu selama 1 menit, kemudian membilas dengan aquades
- 4) Meneteskan iodium dan menunggu selama 2 menit, kemudian membilas dengan aquades
- 5) Membilas dengan alkohol 70%, kemudian membilas dengan aquades
- 6) Menetesi dengan safranin dan menunggu selama 2 menit, kemudian membilas dengan aquades
- 7) Menutup dengan *cover glass*, kemudian mengamati di bawah mikroskop dan mengamati warna bakteri dan bentuk sel bakteri.

3.6.8 Uji Antibakteri (Uji Daya Hambat)

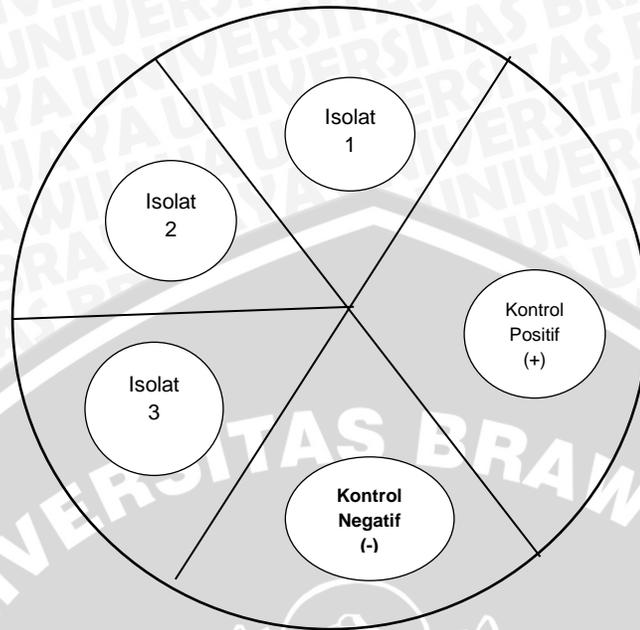
Dalam penelitian ini, metode uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan uji daya hambat menggunakan metode cakram dari Whips (1987) *dalam* Tasnim *et al.*, 2011) (Gambar 10). Metode cakram merupakan metode uji antibakteri dengan

menggunakan kertas cakram. Media TSA yang sudah disterilisasi kemudian dimasukkan kedalam cawan petri steril yang sudah diberi label sampai media TSA memadat. Bakteri patogen digoreskan diseluruh bagian cawan petri sampai merata. Setelah itu merendam kertas cakram yang sudah steril kedalam 200 μ l isolat kultur selama 15 menit dan meletakkannya kedalam cawan petri dengan bantuan pinset, kemudian menginkubasi selama 1 sampai 2x24 jam.



Gambar 10. Proses Uji Antibakteri dengan Metode Cakram (Whips, 1987 dalam Tasnim *et al.*, 2011)

Metode uji daya hambat dalam penelitian ini didesain dengan membagi cawan petri menjadi 5 bagian. Bagian-bagian tersebut digunakan untuk 3 kertas cakram untuk isolat uji, 1 kertas cakram untuk kontrol positif (Tetracyclin) dan 1 kertas cakram untuk kontrol negatif (aquades). Desain uji daya hambat dengan metode cakram dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Desain Uji Daya Hambat



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Kualitas Air

Faktor-faktor yang mempengaruhi bakteri laut untuk tumbuh dan berkembang dapat berupa faktor fisika dan kimia. Faktor-faktor tersebut antara lain suhu, kecerahan, DO (*Dissolved oxygen*), pH dan salinitas (Lidayanti, 2013). Pada penelitian ini diperoleh data parameter kualitas air berupa DO, salinitas, suhu, pH dan kecerahan seperti yang disajikan pada Tabel 3.

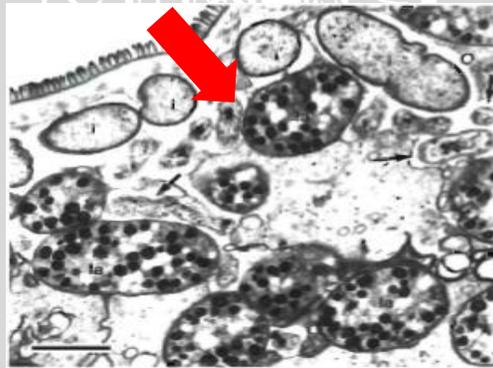
Tabel 3. Hasil parameter kualitas air

	DO (mg/L)	Salinitas (ppm)	Suhu (⁰ C)	pH	Kecerahan (meter)
Balekambang	6.8	33	25	8,05	1
BAKU MUTU (KEPMEN LH 2004)	> 3	33-34	28-30	7 – 8,5	Tidak tetap

Berdasarkan Baku Mutu Air Laut dari Kementrian Lingkungan Hidup Nomor 51 Tahun 2004 untuk biota laut (lamun), kadar pH tergolong normal karena berada pada kisaran baku mutu air laut untuk lamun yakni sebesar 8.05 tetapi suhu di Pantai Balekambang kurang dari ambang batas baku mutu yaitu sebesar 25 ⁰C, DO dan salinitas masih sesuai dengan baku mutu air laut untuk lamun yakni DO sebesar 6.8 dan salinitas sebesar 33. Zubaidah *et al.*, (2006) mengatakan bahwa terdapat 2 faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan bakteri, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor instrinsik antara lain pH, potensial oksidasi reduksi (Eh), nutrisi dan komponen antimikroba sedangkan faktor ekstrinsik antara lain suhu, ketersediaan dan konsentrasi gas lingkungan serta *relative humidity* (RH)

Pelczar dan Chan (2008) menjelaskan bahwa nilai pH yang melebihi batas baku mutu air laut untuk lamun tidak banyak berpengaruh bagi pertumbuhan bakteri

laut. Hal ini dikarenakan sebagian besar bakteri memiliki toleransi nilai pH sebesar 4 sampai 9. Selain itu suhu di Pantai Balekambang yang kurang dari baku mutu yaitu 25°C tidak banyak berpengaruh terhadap aktivitas inang dari bakteri endosimbion. Hal ini dijelaskan oleh Dahuri *et al.*, (2003) yang menjelaskan bahwa kisaran suhu optimal bagi lamun dan bakteri asosiasinya adalah berkisar antara 15-25°C. Kecerahan pada penelitian ini tergolong cukup baik dengan kecerahan sebesar 1 meter dalam kedalaman 1 meter. Kordi (2011) menjelaskan bahwa lamun dapat hidup pada kedalaman hingga 90 meter, asalkan tempat tersebut masih terdapat penetrasi cahaya yang bagus. Rizka (2013) menambahkan bahwa bakteri endosimbion selalu ada dalam biota inangnya dan akan mati jika inangnya telah mati sehingga bakteri simbiosis sering disebut sebagai bakteri spesifik karena hanya terdapat pada biota tertentu saja. Pada organisme lamun masih belum ditemukan letak jaringan tempat bakteri endosimbion tumbuh namun Dubbiler *et al.* (2010) menemukan letak bakteri endosimbion pada organisme *Olavius loisiae* (annelida), yaitu terletak pada jaringan kutikula dan jaringan epidermis seperti pada Gambar 12.



Gambar 12. Letak Bakteri Endosimbion pada *Olavius loisiae* (annelida)

4.2 Isolasi Bakteri

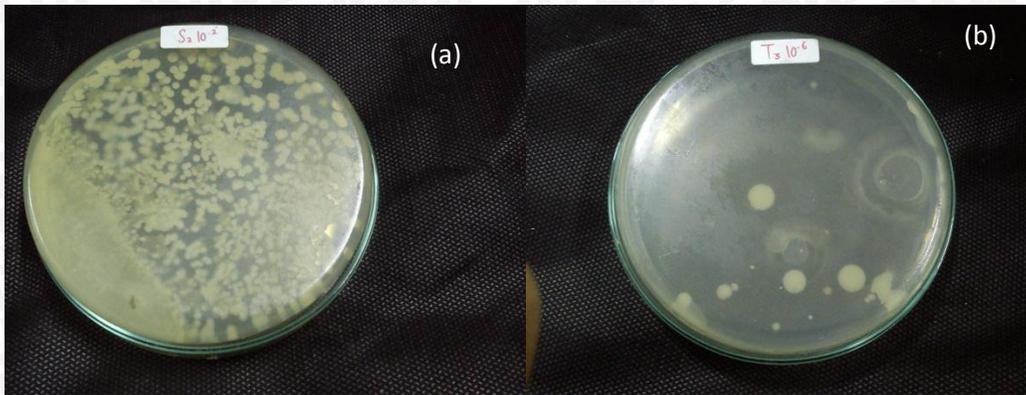
Isolasi bakteri dilakukan dalam berbagai tahapan, yaitu pengenceran, penanaman, pemurnian dan kultur. Tahap pengenceran dilakukan dengan

mengencerkan 3 gram lamun *Thalassia hemprichii* yang telah dihaluskan kedalam 10 ml air laut steril (Gambar 13). Pengenceran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Sampel pengenceran yang sudah dibuat kemudian ditanam kedalam cawan petri yang berisi media TSA steril. Menurut Aryanti (2014), media TSA adalah media universal, hampir semua jenis bakteri bisa tumbuh pada media ini, khususnya bakteri laut. TSA digunakan untuk medium pertumbuhan dengan tujuan mengamati morfologi koloni dan juga biasa digunakan untuk penghitungan jumlah bakteri.



Gambar 13. Hasil Pengenceran Bertingkat

Penanaman dilakukan dengan menggunakan 2 metode, yaitu metode tuang dan sebar. Isolat penanaman dengan metode tuang diberi label "T" dan isolat dengan metode sebar diberi label "S". Hasil dari penanaman dipilih isolat yang terbaik (tidak *spreader* dan tidak kontaminasi dengan jamur) dengan mengambil sebanyak 6 koloni yang terpisah (Gambar 14). Setiap pengulangan hanya diambil sebanyak 6 koloni terbaik yang selanjutnya akan dimurnikan kedalam agar miring yang berisi media TSA. Jumlah koloni pada setiap penanaman dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 14. Hasil Penanaman : (a) metode sebar dari pengulangan ke-2 (pengenceran 10^{-2}) dan (b) metode tuang pengulangan ke-3 (pengenceran 10^{-6})

Tabel 4. Jumlah Koloni yang Tumbuh

Pengenceran	Jumlah Koloni Pada Penanaman		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
Sebar			
10^{-1}	Spreader	Spreader	Spreader
10^{-2}	Spreader	215	219
10^{-3}	Spreader	135	53
10^{-4}	Spreader	Spreader	31
10^{-5}	Spreader	Spreader	Spreader
10^{-6}	Spreader	4	Spreader
10^{-7}	spreader	Spreader	3
Tuang			
10^{-1}	spreader	Spreader	213
10^{-2}	213	139	124
10^{-3}	180	120	45
10^{-4}	Kontaminasi	104	34
10^{-5}	132	134	Spreader
10^{-6}	TBUD	Spreader	24
10^{-7}	102	2	3

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

4.3 Hasil Uji Daya Hambat

Hasil uji daya hambat diperoleh dengan mengukur zona bening dan zona hambat dari masing-masing isolat dan kontrol positif (+) dengan menggunakan jangka sorong digital. Pada setiap cawan telah berisi bakteri patogen, 3 cakram isolat bakteri endosimbion, 1 cakram kontrol positif dan 1 cakram kontrol negatif seperti yang telah didesain pada Gambar 8. Setiap pengulangan dipilih sebanyak 2 isolat dengan zona bening terbesar. Hasil dari uji daya hambat dapat dilihat pada Tabel 5 dan Lampiran 5 sampai 7. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan Tetracyclin. Tetracyclin dipilih sebagai kontrol positif karena mampu dengan baik menghambat bakteri gram positif dan gram negatif dan juga sangat resisten terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades yang merupakan pelarut universal dan bersifat netral atau tidak memiliki kemampuan antibakteri (Pleczar dan Chan, 1988 dalam Poeloengan, 2007).

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Isolat	Diameter (mm)			
	<i>S aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
Ke-1				
AS1	0.3	1.43	0.15	0.19
AS2	2.44	1.33	0.21	1.98
AS3	0.34	3.79*	0.24	0.27
Kontrol (+)	3.98	3.46	6.58	5.61
Kontrol (-)	-	-	-	-
AS4	-	4.74*	0.88	1.40
AS5	-	2.48*	1.02	0.98
AS6	-	-	1.18	0.66
Kontrol (+)	3.87	6.46	6.65	8.57
Kontrol (-)	-	-	-	-
AT1	0.43	1.03	-	-
AT2	0.29	-	0.40	3.57*

Tabel 5. Lanjutan

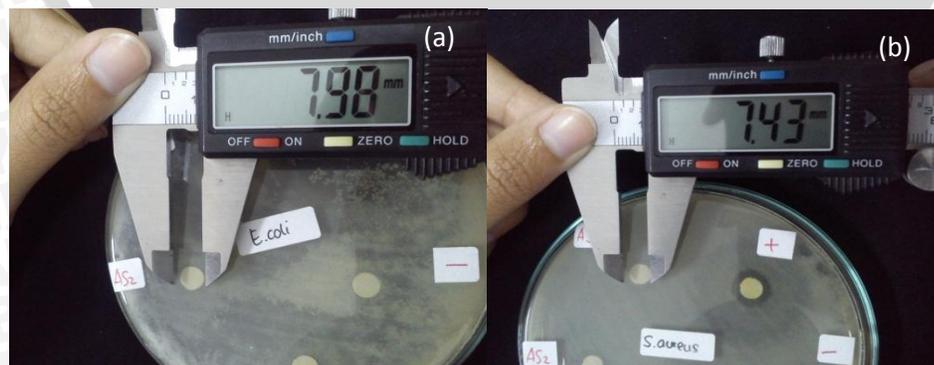
Isolat	Diameter (mm)			
	<i>S aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
AT3	0.76	0.98	-	-
Kontrol (+)	4.38	8.44	7.12	5.11
Kontrol (-)	-	-	-	-
AT4	0.10	0.35	0.61	0.55
AT5	-	1.56*	0.56	0.71
AT6	-	-	2.84	3.84*
Kontrol (+)	4.10	6.60	8.10	8.18
Kontrol (-)	-	-	-	-
Ke-2				
BS1	1.52*	2.11*	4.15*	3.87*
BS2	0.23*	1.50*	3.87*	4.13*
BS3	2.80*	4.76*	4.70*	3.54*
Kontrol (+)	5.44	4.74	5.87	6.60
Kontrol (-)	-	-	-	-
BS4	-	-	-	-
BS5	-	-	0.78*	1.64*
BS6	-	0.91*	1.79*	1.62*
Kontrol (+)	5.11	3.66	5.28	5.96
Kontrol (-)	-	-	-	-
BT1	1.10*	0.85	4.15*	4.67*
BT2	-	0.77	1.93*	4.80*
BT3	-	1.18*	-	1.34*
Kontrol (+)	1.88	0.56	-	-
Kontrol (-)	-	-	-	-
BT4	-	-	3.03*	1.33*
BT5	-	1.76*	-	-
BT6	-	0.77*	-	-
Kontrol (+)	5.45	4.01	1.37	1.23
Kontrol (-)	-	-	-	-
Ke-3				
CS1	0.35	0.67	0.40	3.24*
CS2	1.27	0.44	-	-
CS3	-	-	-	-
Kontrol (+)	0.44	1.07	2.25	2.55
Kontrol (-)	-	-	-	-
CS4	0.02*	-	-	-
CS5	-	-	-	0.08
CS6	1.14*	-	-	0.07
Kontrol (+)	0.96	0.57	1.91	0.89
Kontrol (-)	-	-	-	-
CT1	0.32*	-	0.61*	1.84*
CT2	3.28*	4.54*	0.72*	3.04
CT3	0.43*	-	-	-
Kontrol (+)	2.26	1.68	1.80	2.04

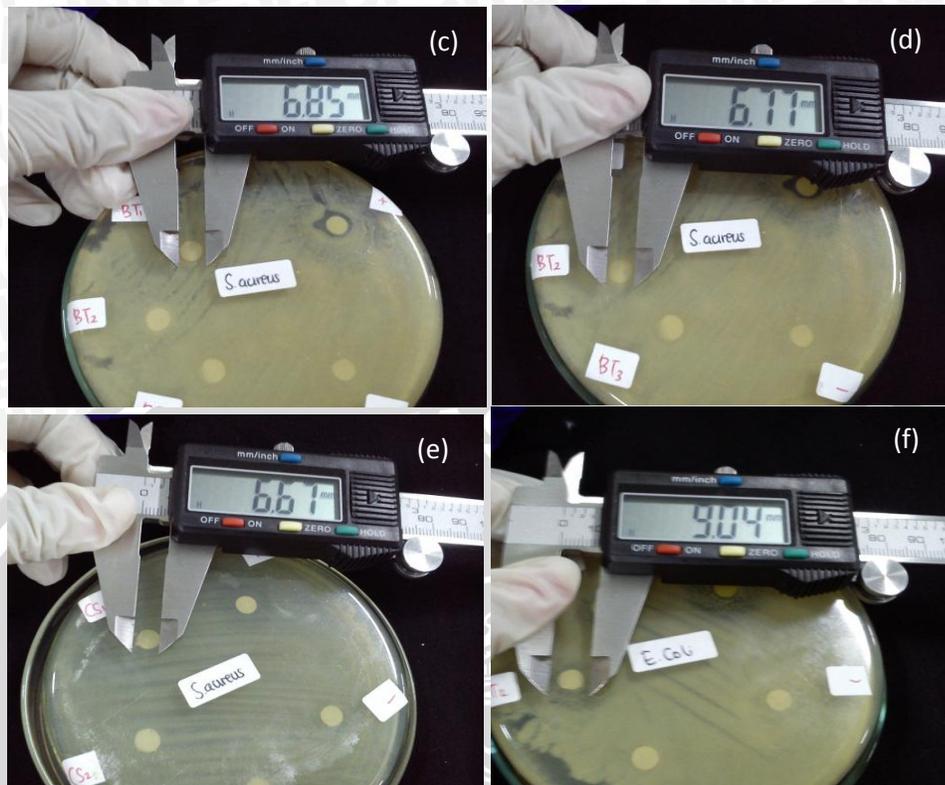
Tabel 5. Lanjutan

Isolat	Diameter (mm)			
	<i>S aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
Kontrol (-)	-	-	-	-
CT4	3.43*	3.66*	2.84*	1.74*
CT5	2.27*	1.57*	2.78*	-
CT6	2.18*	2.23*	1.81*	1.92*
Kontrol (+)	6.73	6.50	2.25	2.25
Kontrol (-)	-	-	-	-

Keterangan : (*) : merupakan zona hambat (isolat mampu menghambat)
 Tanpa (*) : merupakan zona bening (isolat mampu membunuh)
 Hijau : menunjukkan isolat terbaik yang dipilih
 Kode A, B dan C : ulangan ke-1, ke-2 dan ke-3
 Kode S dan T : secara berurutan merupakan metode Sebar dan Tuang
 Diameter zona hambat/bening sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram sebesar 6 mm

Pada uji daya hambat ke-1, terdapat peningkatan efektivitas daya hambat dari inkubasi selama 24 jam ke inkubasi 48 jam. Tabel 5 menunjukkan beberapa isolat mampu membentuk zona bening (mampu membunuh) terhadap kedua bakteri patogen. Pada uji daya hambat ke-1, dipilih 2 isolat yang memiliki zona bening terbesar untuk selanjutnya diidentifikasi bakterinya, yaitu isolat AS1 terhadap *S. aureus* dan AS2 terhadap *E. coli* (Gambar 15). Pada uji daya hambat ke-2, dipilih 2 isolat yang memiliki zona bening terbesar untuk selanjutnya diidentifikasi bakterinya, yaitu isolat BT1 dan BT2 terhadap *S. aureus* (Gambar 15). Sedangkan untuk uji daya hambat ke-3. Diambil 2 isolat dengan zona bening terbesar, yaitu isolat CS1 terhadap *S. aureus* dan isolat CT2 terhadap *E. coli* (Gambar 15).





Gambar 15. Hasil uji daya hambat : gambar (a) dan (b) merupakan pengulangan ke-1, gambar (c) dan (d) merupakan pengulangan ke-2 dan gambar (e) dan (f) merupakan pengulangan ke-3

Zona bening yang terbentuk dari keenam isolat yang didapatkan (Tabel 6) memiliki zona bening yang tergolong kecil, yaitu kurang dari 5 mm sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri dari keenam isolat tersebut adalah lemah. Sedangkan untuk zona hambat yang terbentuk (Tabel 6) memiliki zona hambat yang sedang, yaitu pada isolat BS2 dan BT1 terhadap *E. coli* dengan zona hambat masing-masing 8.16 dan 8.67 mm dikarenakan zona hambat yang terbentuk berada pada kisaran 5 mm sampai 10 mm. Hal tersebut dijelaskan oleh Davis dan Stout (1971) dalam Dewi (2010) yang mengatakan bahwa kriteria kekuatan zona hambat/bening yang menandakan aktivitas antibakteri adalah jika daerah hambatan >20 mm berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, daerah hambatan 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan <5 mm berarti lemah.

Penelitian ini menggunakan kepadatan bakteri yang disamakan dengan 0,5 McFarland atau setara dengan $1,5 \times 10^8$. Sejauh ini, belum ditemukan kepadatan tertentu dari bakteri uji yang dapat dengan baik membunuh bakteri patogen. Poeloengan *et al.*, (2010) menguji *S. aureus* dan *E. coli* yang disamakan dengan 3 McFarland (9×10^8) terhadap ekstrak etanol kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers) dan mendapatkan bahwa *S. aureus* dan *E. coli* memiliki resistensi yang lemah.

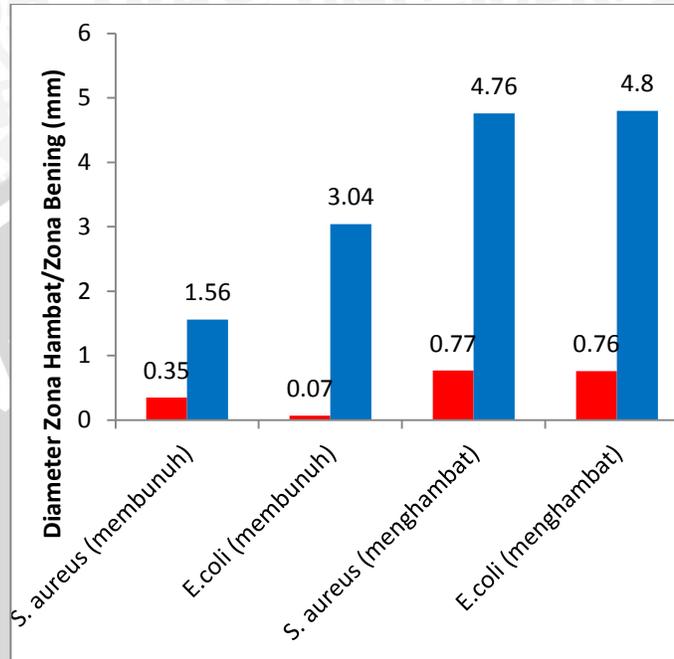
Tabel 6. Isolat yang memiliki zona bening/hambat terbesar dalam inkubasi 48 jam

No	Isolat	Diameter Zona Bening Terhadap Bakteri Petogen (mm)
Membunuh		
1	AS1	1.43 (<i>S. aureus</i>)
2	AS2	1.98 (<i>E. coli</i>)
3	BT1	0.85 (<i>S. aureus</i>)
4	BT2	0.77 (<i>S. aureus</i>)
5	CS1	0.67 (<i>S. aureus</i>)
6	CT2	3.04 (<i>E. coli</i>)
Menghambat		
1	AS4	4.74* (<i>s. aureus</i>)
2	AT6	3.84* (<i>e. coli</i>)
3	BS3	4.76* (<i>s. aureus</i>)
4	BT2	4.80* (<i>e. coli</i>)
5	CT2	4.54* (<i>s. aureus</i>)
6	CT4	3.66* (<i>s. aureus</i>)

Keterangan ; (*) : menandakan isolate yang hanya memiliki zona hambat

Pada ketiga tahapan uji daya hambat, aktivitas zona hambat dari bakteri endosimbion cenderung lebih besar terhadap *E. coli* yaitu dengan kisaran zona hambat sebesar 0,76 mm – 4,80 mm dibandingkan terhadap *S. aureus* yang memiliki zona hambat dengan kisaran 0,77 mm - 4,76 mm (Gambar 16). Sedangkan untuk aktivitas zona bening (membunuh), bakteri endosimbion cenderung lebih besar untuk membunuh *E. coli* yaitu dengan kisaran zona bening antara 0,07 mm –

3,07 mm dibandingkan dengan *S. aureus* yang memiliki kisaran zona bening sebesar 0,35 mm -1,56 mm (Gambar 16).



Keterangan : Warna merah : menunjukkan angka terendah
Warna biru : menunjukkan angka tertinggi

Gambar 16. Grafik Perbandingan Efektifitas Antibakteri Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Gambar 16 memberikan kesimpulan bahwa bakteri endosimbion pada lamun *Thalassia hemprichii* memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat *E. coli* yaitu dengan zona hambat tertinggi sebesar 4,80 mm dan juga memiliki kemampuan lebih baik dalam membunuh *E. coli* yaitu dengan zona bening tertinggi sebesar 3,04 mm.

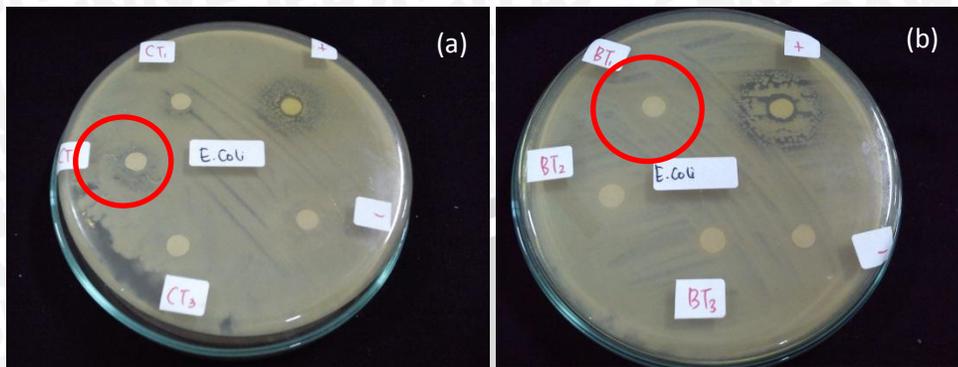
4.4 Mekanisme Antibakteri Endosimbion Lamun *Thalassia hemprichii*

Hasil uji aktivitas antibakter pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 2 jenis aktivitas antibakteri yang terbentuk, yaitu zona bening dan zona hambat. Luthana (2008) menjelaskan bahwa terdapat 3 sifat aktivitas antibakteri yang dimiliki

oleh bakteri, yaitu bakteri dapat bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat bakteri) dan juga germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Kemampuan bakteri dalam menghambat ataupun membunuh pertumbuhan bakteri lain dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor sebagai berikut.

1. Waktu : hal ini mengacu pada fase-fase bakteri dimana bakteri akan memiliki kemampuan yang berbeda pada fase-fase tertentu.
2. konsentrasi zat antibakteri : senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri memiliki kemampuan yang berbeda terhadap bakteri lain yang menjadi lawannya
3. jenis, umur dan keadaan bakteri : hal ini juga mengacu pada fase bakteri dimana bakteri memiliki kemampuan yang berbeda pada setiap fase. Berbeda jenis bakteri, maka berbeda pula kemampuannya. Sedangkan untuk umur, semakin lama umur bakteri semakin melemah kemampuannya untuk melawan bakteri lain yang mempunyai umur yang lebih muda.

Bakteri endosimbion yang membentuk zona bening mengindikasikan bahwa bakteri tersebut memiliki sifat bakteriosidal, yaitu mampu untuk membunuh bakteri patogen sehingga dapat terbentuk zona bening disekitar kertas cakram (Gambar 17). Bakteri endosimbion yang membentuk zona hambat mengindikasikan bahwa bakteri tersebut memiliki sifat bakteriostatik, yaitu hanya mampu untuk menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen, sehingga bakteri endosimbion aka tumbuh disekitar kertas cakram tanpa membunuh bakteri pathogen (Gambar 17).



Gambar 17. Sifat Antibakteri : (a) bakteriosidal dan (b) bakteriostatik

Hasil uji aktivitas antibakteri dalam masa inkubasi dari 24 jam ke 48 jam menunjukkan adanya aktivitas yang berbeda, baik berupa penurunan, peningkatan maupun tidak terjadi aktivitas antibakteri (Tabel 5). Penurunan dan peningkatan aktivitas antibakteri tersebut disebabkan oleh perbedaan fase-fase pertumbuhan bakteri. Zubaidah *et al.*, (2006) menyebutkan terdapat 3 fase pertumbuhan bakteri dimana bakteri tersebut mengasilkan senyawa metabolik sekunder, yaitu sebagai berikut..

1. Fase pertumbuhan cepat (logaritmik) : bakteri sudah mampu beradaptasi sehingga bakteri mampu membelah dengan cepat mengikuti kurva logaritmik. Faktor pengaruh kecepatan pertumbuhan adalah kandungan nutrient yang terdapat pada media tumbuhnya. Pada fase ini bakteri membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan fase sebelumnya.
2. Fase pertumbuhan lambat : pertumbuhan bakteri menjadi lambat. Hal ini dikarenakan oleh persaingan antar bakteri yang menyebabkan zat-zat nutrisi di dalam media pertumbuhannya sudah berkurang.
3. Fase pertumbuhan tetap (statis) : jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan yang mati, ukuran sel pada fase ini semakin kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah habis.

Penurunan aktivitas ditandai dengan penurunan diameter zona hambat atau zona bening seperti pada isolat AT2 terhadap *S. aureus*. Hal ini dapat terjadi dikarenakan bakteri endosimbion telah mencapai fase pertumbuhan lambat dalam inkubasi 24 jam maupun 48 jam yang ditunjukkan dari oenurunan zona bening maupun zona hambat yang terbentuk. Perubahan zona bening menjadi zona hambat juga merupakan penurunan aktivitas antibakteri seperti pada isolat AT6 terhadap *E.coli*. Hal ini dikarenakan bakteri endosimbion mengalami fase lambat dan bakteri patogen *E. coli* mengalami fase pertumbuhan cepat (fase logaritmik) pada inkubasi 48 jam. Hal ini menyebabkan bakteri endosimbion mengalami penurunan dalam menghasilkan senyawa metabolik sekunder sehingga tidak mampu lagi membunuh *E. coli*.

Peningkatan aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya peningkatan diameter zona hambat atau zona bening seperti pada isolat AS1 terhadap *S. aureus*. Hal ini dikarenakan bakteri endosimbion pada isolat AS1 mengalami fase logaritmik sehingga bakteri endosimbion mampu untuk menghambat atau membunuh patogen *S. aureus*. Perubahan dari zona hambat menjadi zona bening seperti pada isolat CT2 terhadap *E. coli* dalam 48 jam juga merupakan peningkatan aktivitas antibakteri. Hal ini dikarenakan bakteri endosimbion pada isolat CT2 mengalami fase logaritmik lebih cepat dibandingkan *E. coli* sehingga bakteri endosimbion mampu menghasilkan senyawa metabolik sekunder lebih banyak untuk membunuh *E. coli*. Pelczar *et al.* (1986) dalam Elita (2013) menyatakan bahwa senyawa metabolik sekunder pada bakteri dihasilkan pada fase cepat (logaritmik) dan fase stasioner. Senyawa metabolik sekunder belum muncul pada saat fase adaptasi dan mengalami penurunan pada fase pertumbuhan lambat.

4.5 Hasil Identifikasi Morfologi Bakteri

Sebanyak 6 isolat dengan zona bening terbesar (Tabel 5) selanjutnya diidentifikasi morfologi sel dan morfologi koloninya. Identifikasi morfologi sel dilakukan dengan metode pewarnaan gram. Menurut Lestari (2013), pewarnaan gram adalah suatu metode untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram positif dan gram negatif. Identifikasi morfologi koloni dilakukan dengan cara penanaman yang selanjutnya diidentifikasi menurut Dwijoseputro (2005) (Gambar 18). Hasil identifikasi morfologi sel dan morfologi koloni dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 8.



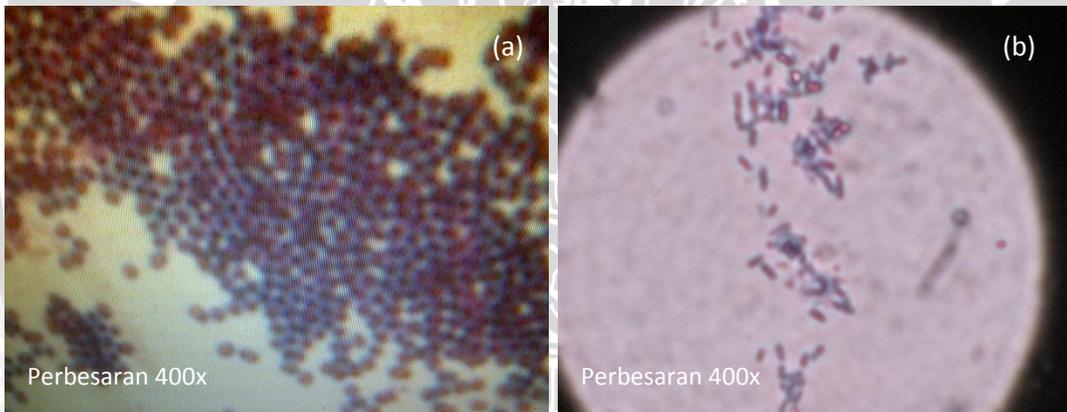
Gambar 18. Morfologi Koloni Bakteri

Tabel 7. Hasil Identifikasi Morfologi Bakteri

Isolat	Morfologi Sel			Morfologi koloni		
	Warna Gram	Gram	Bentuk sel	Tepian	Elevasi	Warna
AS1	Ungu	Positif	Basil	Utuh	Rata	Putih susu
AS2	Ungu	Positif	Kokus	Utuh	Rata	Putih susu

Isolat	Morfologi Sel			Morfologi koloni		
	Warna Gram	Gram	Bentuk sel	Tepian	Elevasi	Warna
BT1	Merah	Negatif	Kokus	Utuh	Rata	Putih susu
BT2	Merah	Negatif	Kokus	Utuh	Rata	Putih susu
CS1	Ungu	Positif	Kokus	Utuh	Rata	Putih susu
CT2	Ungu	Positif	Kokus	Utuh	Rata	Putih susu

Hasil pengamatan morfologi sel pada Tabel 7 menunjukkan bahwa bakteri endosimbion yang memiliki aktivitas antibakteri lebih dominan adalah gram positif dengan bentuk kokus. Perbedaan morfologi sel dapat dilihat pada Gambar 19. Selain itu, hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa koloni bakteri endosimbion lebih dominan memiliki elevasi tepian yang utuh, memiliki elevasi rata dan berwarna putih susu (Gambar 20).



Gambar 19. Hasil Morfologi Sel dengan Perbesaran 400X : (a) Gram Negatif Dengan Bentuk Sel Kokus dan (b) Gram Positif Dengan Bentuk Sel Basil.



Gambar 20. Morfologi Koloni Pada Isolat CS1 dengan Tepian Utuh, Elevasi Rata dan Berwarna Putih Susu

Hasil identifikasi morfologi bakteri juga pernah dilakukan oleh Massinai *et al.* (2013) yang menemukan 7 isolat bakteri endosimbion pada *T. hemprichii* dengan bakteri yang dominan bakteri gram negatif. Zobell (1946) dalam Sidharta (2000) menjelaskan bahwa bakteri laut khususnya endosimbion sebenarnya lebih dominan adalah gram negatif dengan bentuk batang, namun tidak semua bakteri endosimbion mempunyai aktivitas antibakteri terhadap patogen, khususnya *S. aureus* dan *E. coli*. Hutching dan Saenger (1987) dalam Massinai (2013) menjelaskan bahwa bakteri gram positif cenderung lebih resisten terhadap bakteri gram negatif (*E. coli*) karena mempunyai dinding sel yang lebih tebal dan lebih solid. Selain itu, bakteri gram positif juga lebih dominan dalam hal resistensi terhadap bakteri gram yang sama (positif). Hal tersebut menyebabkan bakteri yang ditemukan dalam penelitian ini lebih dominan adalah bakteri gram positif.

Metode pewarnaan gram yang dipakai pada penelitian ini adalah untuk membedakan bakteri gram negatif dan positif berdasarkan warna yang timbul pada bakteri endosimbion. Mekanisme pembentukan warna tersebut terjadi pada dinding sel bakteri seperti yang dijelaskan oleh Lestari (2013), yaitu bakteri gram positif akan

mempertahankan warna ungu atau biru dari kristal ungu setelah dicuci dengan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif tidak mempertahankan warna ungu dan akan menyerap warna merah dari safranin sehingga dapat berwarna merah.

Mekanisme penyerapan warna yang terjadi pada proses pewarnaan gram terjadi dikarenakan struktur dinding sel pada bakteri gram negatif dan positif adalah berbeda. Menurut Madigan *et al.* (2003) bakteri gram positif dan gram negatif memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Struktur dinding sel pada gram positif relatif lebih tebal, yaitu 15-80 nm dan memiliki peptidoglikan hanya berlapis tunggal. Meskipun gram positif memiliki dinding sel yang tebal, namun dinding selnya memiliki kadar lipid yang rendah. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis 10-15 nm, namun memiliki 3 lapisan peptidoglikan. Oleh karena dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis, maka dinding sel yang sebelumnya menyerap warna ungu akan pudar setelah lemak luruh terhadap alkohol sehingga warna ungu akan hilang dan gram positif akan menyerap warna merah dari safranin. Sedangkan pada gram positif cenderung lebih kuat untuk menahan warna ungu yang diserap dikarenakan dinding sel yang tebal sehingga lemak tidak sepenuhnya luruh setelah diberi alkohol.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat dua aktivitas antibakteri dari bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii*, yaitu menghambat (bakteriostatik) dan membunuh (bakteriosidal) yang termaduk dalam kategori zona hambat/bening yang kecil (lemah).
2. Bentuk morfologi sel dari bakteri endosimbion yang memiliki aktivitas antibakteri didominasi oleh gram positif dengan bentuk sel kokus, sedangkan morfologi koloninya didominasi tepian utuh dan berwarna putih susu.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah bahwa pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi secara molekuler terhadap bakteri endosimbion lamun *Thalassia hemprichii* yang memiliki aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

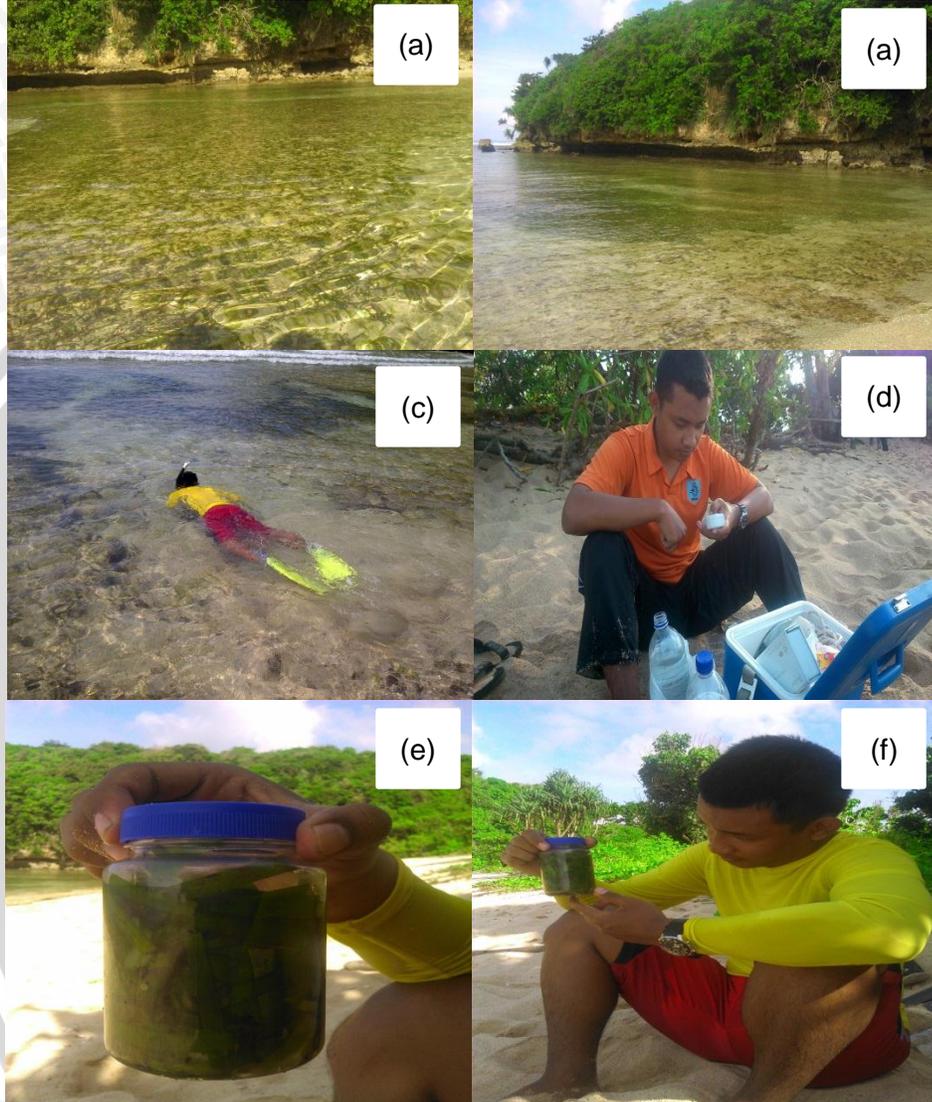
- Anggraeni, D. M. (2012). Uji Desinfeksi Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Kavitasi *Water Jet*. Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok
- Ali, A., Hala, Y., & Darminto. (2006). *Penapisan dan Karakterisasi Parsial Senyawa Antimikroba Dari Siput Bakau dan Profil Kromatologi Lapis Tipis Fraksi Aktif*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Makassar. Makassar
- Aryanti, D. (2014). *Pembuatan Media Tryptic Soy Agar (TSA)*. Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten
- Azkab, M. H. (2009). *Lamun (seagrass): Pedoman inventarisasi lamun*. Pusat Penelitian Oseanografi. Jakarta
- Britannica. (2015). *Escherichia coli*. <http://www.britannica.com/science/E-coli/images-videos>. Diakses pada 9 Juni 2015 pukul 01.43 WIB
- Dahuri, R. (2003). Keanekaragaman hayati Laut, Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Dali, S., Natsir, H., Usman, H., & Ahmad, A. (2011). Antibacterial bioactivity of protein fractions of red seaweed *Gelidium amansii* from Cikoang water, Takalar Regency, South Sulawesi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 15(1): 47-52.
- Dewi, K. F. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.
- Dubilier, N., Amann, R., Erseus, C., Muyzer, G., Park, S. Y., Giere, O., *et al.* (2010). Phylogenetic diversity of bacterial endosymbionts in the gutless marine oligchete *Olavius loisae* (Annelida). *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 178: 271-280
- Dwidjoseputro. (2005). *Dasar Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambantan Jakarta.
- Elita, A., Saryono, S., & Christine, J. (2013). Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba Dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. Dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Ind.Che.Acta*. Vol 3(2)
- KEPMEN LH. (2004). *Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 54 Tahun 2004*. Kementrian Lingkungan Hidup.
- Kordi, M. G. H. (2011). *Ekosistem Padang lamun (seagrass)*. Rineka Cipta. Jakarta

- Kurniawan, M. L. (2010). Analisis Kecenderungan Persebaran Meiofauna Pada Lamun yang Dipengaruhi Oleh Variabel Lingkungan. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya
- Kusuma, S. A. (2009). *Staphylococcus aureus*. Universitas Padjajaran. Bandung
- Lestari, R. (2013). Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul Dan Gram. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Yogyakarta. Yogyakarta
- Lidayanti, E. (2013). Potensi Antibakteri dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hassanudin Makassar.
- Luthana, K. (2008). Prosedur Ekstraksi Senyawa Fenol dan Antibakteri Dari Tanaman Gambir yang Disertai Metode Analisisnya
- Madigan M. T., Martinko J. M., & Parker J. (2003). Brock Biology of Microorganisms. Ed ke- 10. Pretince hall. New York
- Mano N. (2007). Culturable endophytic bacterial flora of the maturing leaves and roots of rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a Paddy field. *Microbes and Environment*. 22 (2), 175-185.
- Marhaeni. (2010). Potensi Bakteri Asosiasi Tumbuhan Lamun Sebagai Penghambat Terjadinya Biofouling Di Laut. *Disertasi*. Sekolah pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Massinai, A., Haris, A., Lidayanti, E., & Gosary, B.A. (2013). Lamun Pulau Bonebatang, Kepulauan Spermonde dan Bakteri Asosiasinya. *Jurnal Pasca Sarjana Universitas Hassanudin*. (*in press*).
- Melki, Ayu, W., & Kurniati. (2011). Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria* sp (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Program Studi Ilmu Kelautan Fakultas MIPA. Universitas Sriwijaya. Indrajaya.
- Nurzahraeni. (2014). Keragaman Jenis Dan Kondisi Padang Lamun Di Perairan Pulau Panjang Kepulauan Derawan Kalimantan Timur. Skripsi. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hassanudin. Makassar
- Pelczar, M. J. & Chan E. C. S. (2005). *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. UI Press : Jakarta
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Ratna Siri Hadioetomo (Ed.). UI Press Jakarta.
- Poeloengan, M., Andriani, Susan, M. N., Komala, I., & Hasnita, M. (2007). Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* pers) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veterine.

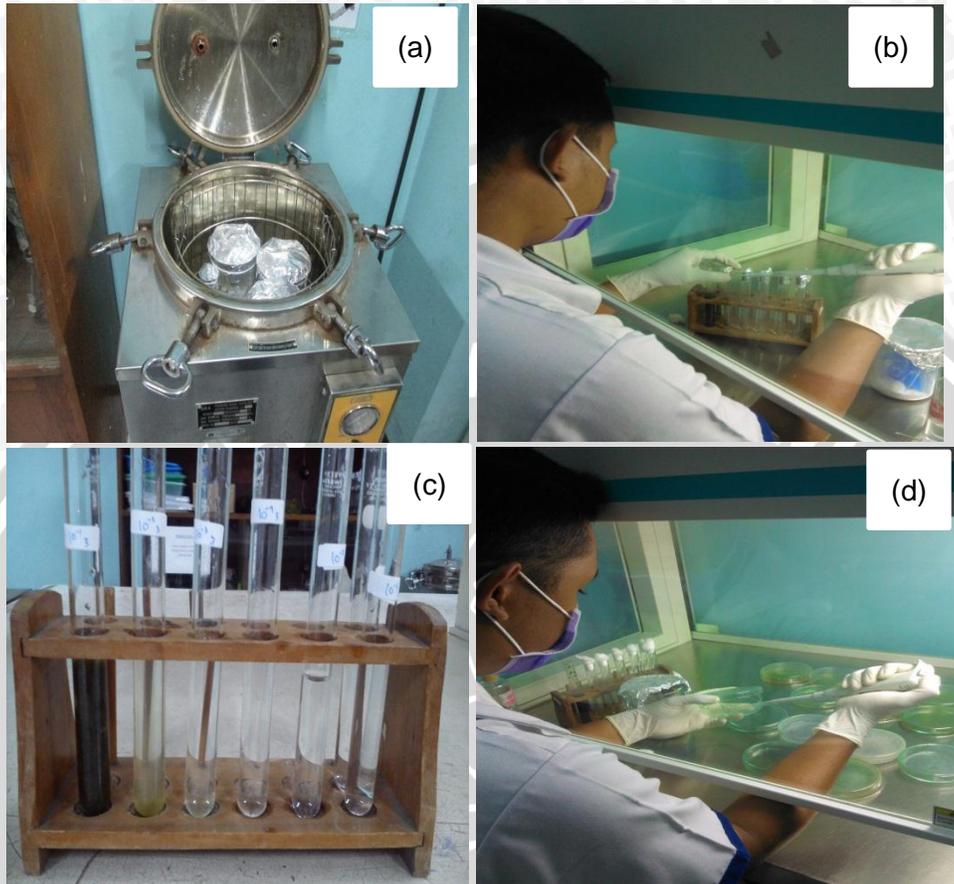
- Radjasa, O. K., Agus S., Subagyo., Wilis A.S., Agus T & A. Djunaedi. (2003). Laporan Penelitian : Skrining Organisme Laut Pada Ekosistem Terumbu Karang Penghasil Senyawa Bioaktif. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNDIP. Semarang
- Radjasa, O. K., Duhita, S. K., Agus, S., Rory, A. H., & E, S. L. (2007). Antibacterial Activity of Marine Bacteria Associated with sponge *Aptos* sp. against Multi Drugs Resistant (MDR) strains. *Jurnal Matematika Dan Sains*, Desember 2007, Vol. 12 No. 4
- Ravikumar, S., Thajuddin, N., Suganthi, P., Jacob S & Vinodkumar, T. (2010). Bioactive Potential of seagrass bacteria against Human bacterial Pathogens. *Journal of Environmental Biology*. 387-389
- Rizka, A. (2013). Skrining Bakteri Symbion Spons Asal Perairan Pulau Polewali Dan Pulau Sarappolompo Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia Dan Ikan. Skripsi. Universitas Hassanudin. Makassar.
- Romimohtarto & Juwana. (2007). *Biologi Laut*. Penerbit Djambatan, Jakarta
- Sardiani, N., M.Litaay., R.Budji., D.Priosambodo., Syahribulan., & Z.Dwyana. (2015). Potensi Tunikata *Rhopelaea* sp sebagai sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri. Universitas Hassanudin Makassar
- Sidharta, B. R. (2000). *Pengantar mikrobiologi kelautan*. Universitas Atmajaya. Yogyakarta. Yogyakarta
- Sugiyono, (2011). *Statistika untuk Penelitian*. Penerbit Alfabeta. Bandung
- Tasnim, S., R. Kawuri., & Ni Putu, A. S. (2011). Efektifitas Daya Hambat Bakteri *Streptomyces* sp Terhadap *Erwinia* sp Penyebab Penyakit Busuk Rebah Pada Tanaman Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill). *Jurnal Simbiosis* 1(1):21-27
- Taylor, M. T., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology and biotechnological potential. *Microbio Mol Bio*. 2:295-347
- Todar, K. (2011). *Biological identity of Prokaryotes*. Departement of Bacteriology University of Wisconsin-Madison. USA..
- Zubaidah, E., Ningtyas, D. W., & Nur, M. (2006) *Mikrobiologi Umum Diktat Kuliah*. Universitas Brawijaya Malang

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan lokasi, pengambilan sampel dan pengukuran kualitas air



Lampiran 2. Sterilisasi, Pengenceran dan Penanaman

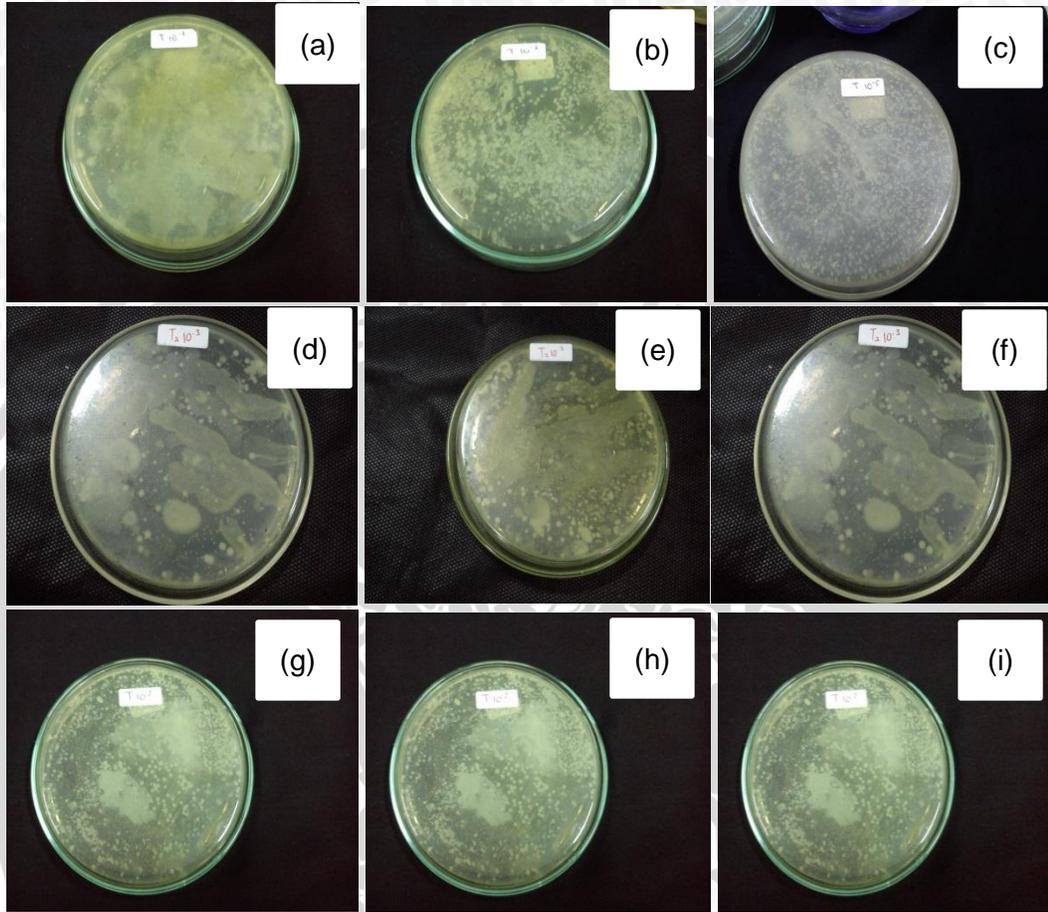


Gambar 21. Sterilisasi, Pengenceran dan Penanaman : (a) sterilisasi, (b) pengenceran, (c) hasil pengenceran dan (d) penanaman



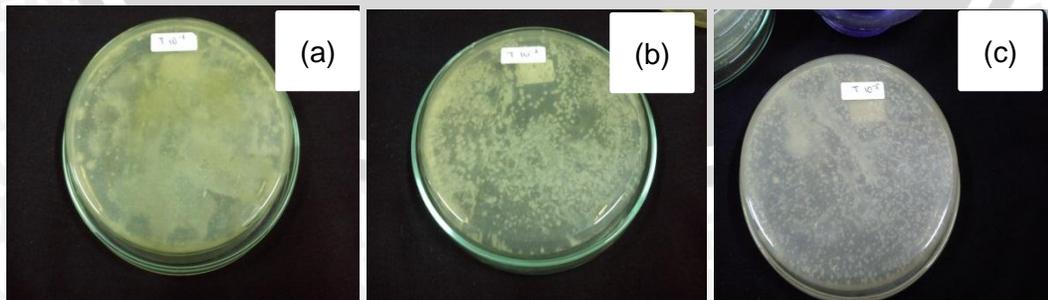
Lampiran 3. Hasil Penanaman

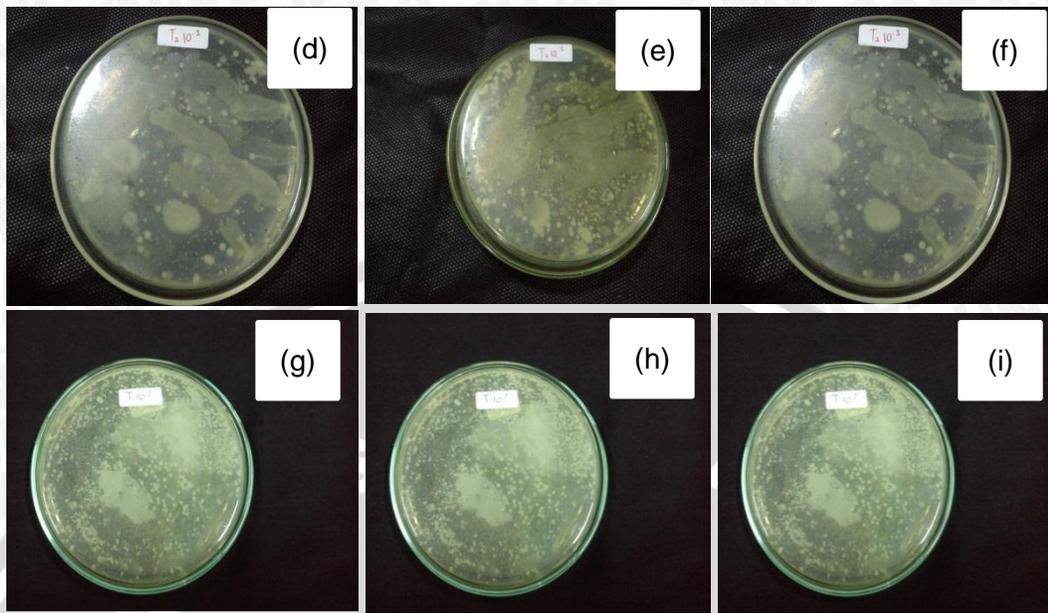
(A) Metode Tuang



Gambar 22. Penanaman Metode Tuang : (a, b dan c) adalah penanaman ke-1, (d, e dan f) adalah penanaman ke-2 dan (g, h, i) adalah penanaman ke-3

(B) Metode Sebar

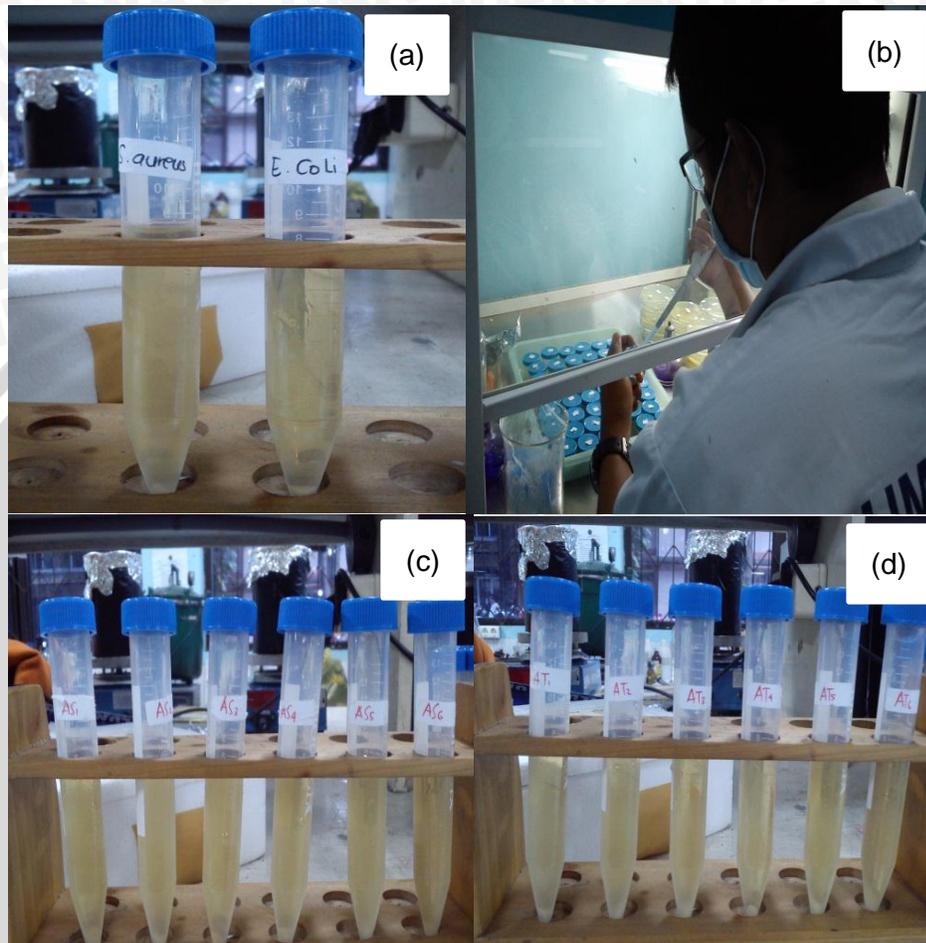




Gambar 23. Penanaman Metode Sebar : (a, b dan c) adalah penanaman ke-1, (d, e dan f) adalah penanaman ke-2 dan (g, h, i) adalah penanaman ke-3

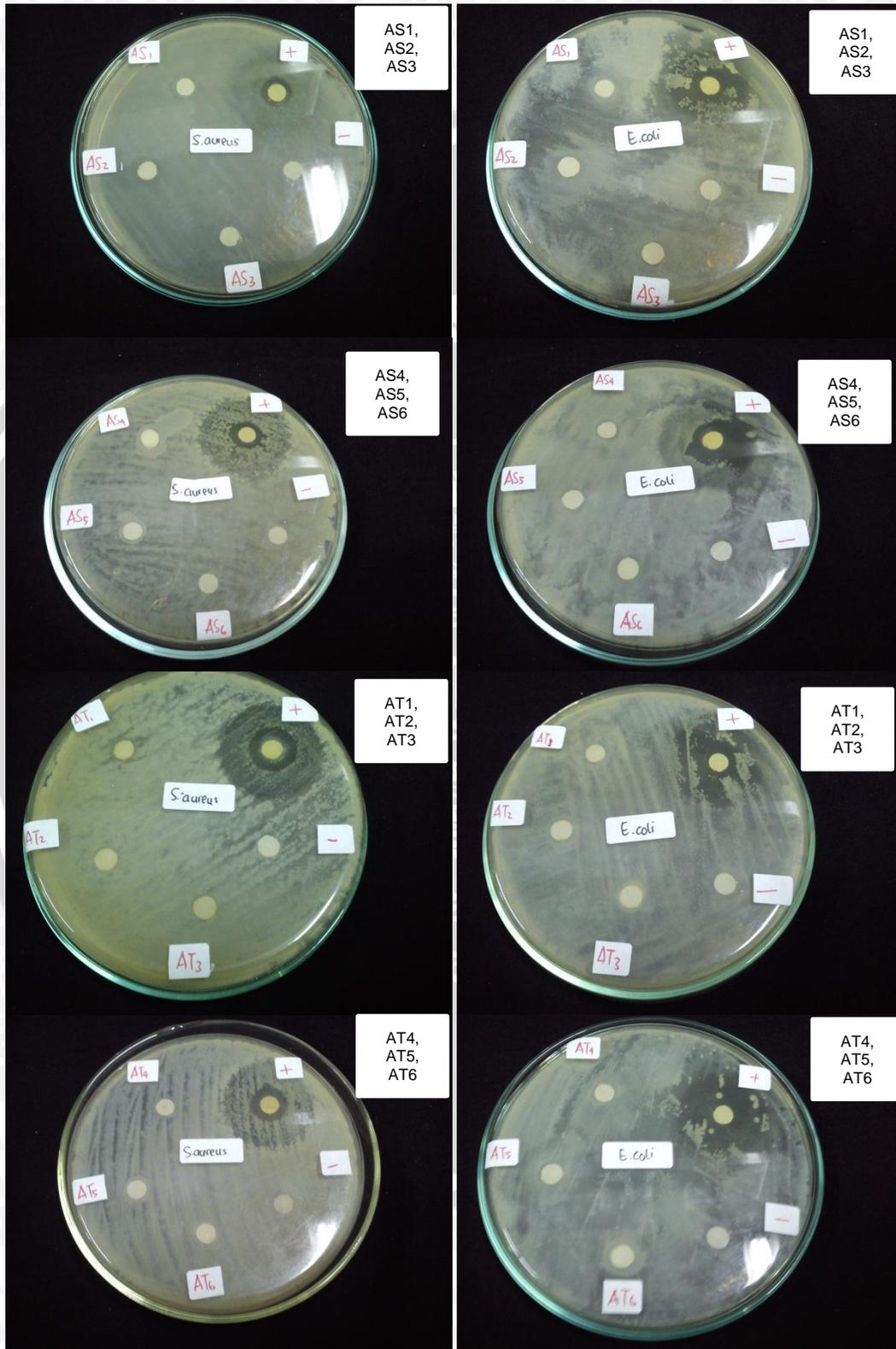


Lampiran 4. Pembuatan Stok Bakteri Endosimbion dan Bakteri Patogen

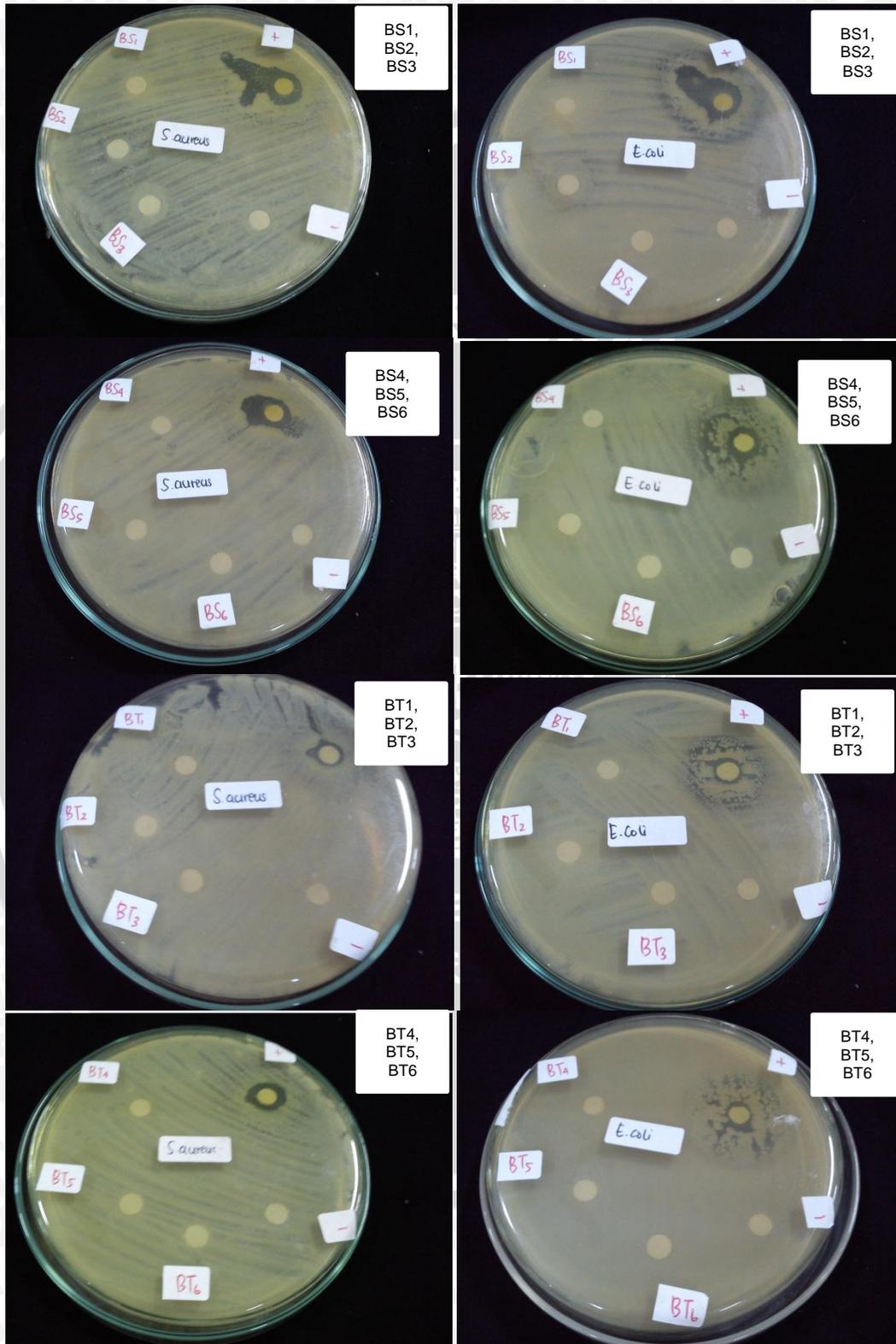


Gambar 24. Stok Bakteri Endosimbion dan Patogen : (a) stok bakteri pathogen, (b) pembuatan stok bakteri, (c) dan (d) stok bakteri endosimbion

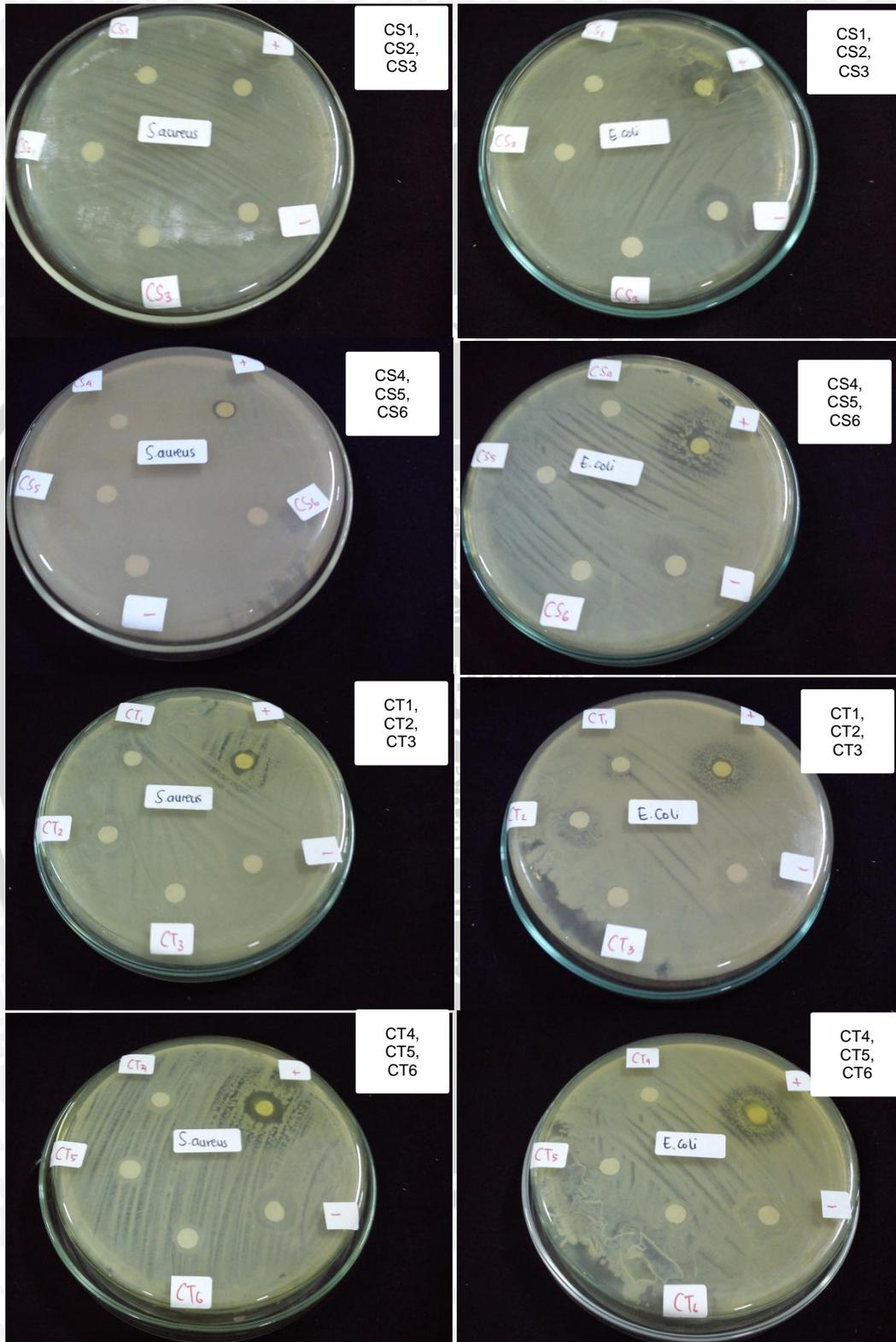
Lampiran 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-1 (Inkubasi 48 jam)



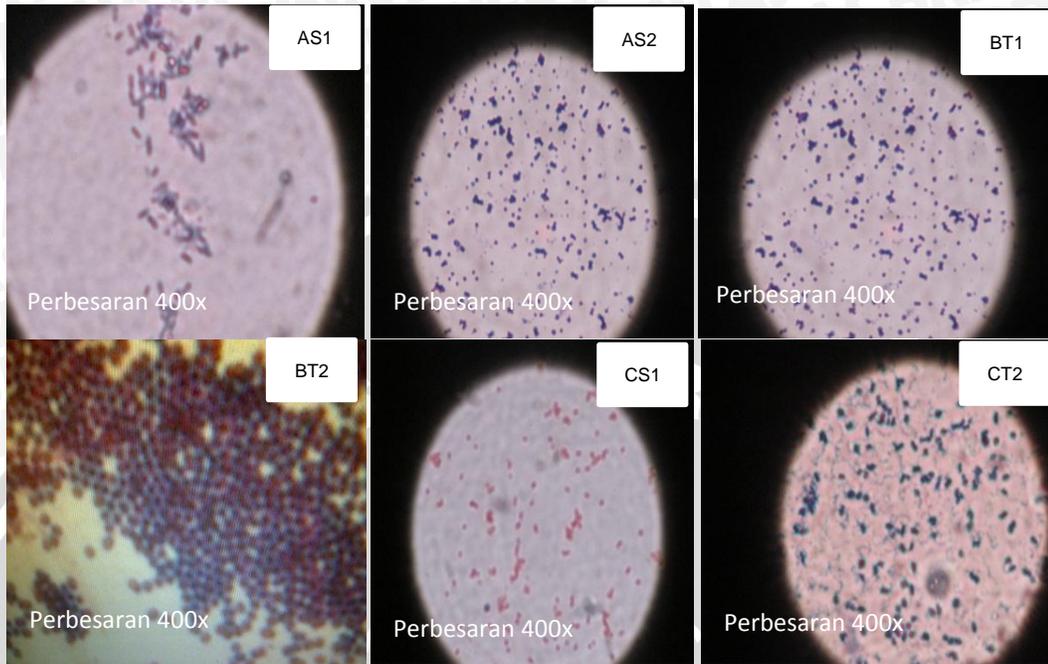
Lampiran 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-2 (Inkubasi 48 jam)



Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ke-3 (Inkubasi 48 jam)



Lampiran 8. Hasil Pewarnaan Gram



Lampiran 9. Perhitungan Pembuatan Media TSA dan TSB

Perhitungan TSA

gram media TSA = $40/1000 \times \text{jumlah cawan} \times 20$ (volume cawan petri)

ml aquades = $\text{jumlah cawan} \times 20$ (volume cawan petri)

Perhitungan TSB

gram media TSB = $30/1000 \times \text{jumlah tabung reaksi} \times 10$ (volume tabung reaksi)

ml aquades = $\text{jumlah tabung reaksi} \times 10$ (volume tabung reaksi)

