

KARAKTERISASI, ANALISIS GEN 16S-rRNA BAKTERI BL542 DAN EVALUASI EFEK BAKTERISIDANYA TERHADAP *Vibrio harveyi* PENYEBAB PENYAKIT PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)

Muliani, Nurhidayah, dan Muharijadi Atmomarsono

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakteristik, mengevaluasi efek bakterisida, dan menentukan posisi relatif isolat BL542 melalui analisis sekuen 16S-rRNA. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan kerja yaitu: (1) karakterisasi fisiologi dan biokimia, (2) uji sensitivitas terhadap antibiotik, (3) uji daya hambat isolat BL542 terhadap *V. Harveyi*, (4) uji patogenisitas isolat BL542 terhadap larva udang, (5) ujiantang secara *in vitro* maupun secara *in vivo* isolat BL542 dengan *V. Harveyi*, (6) analisis gen 16S-rRNA isolat BL542. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat BL542 termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek, indol negatif, tidak motil, katalase negatif, oksidase positif, bersifat proteolitik, amilolitik, dan kitolitik. Bakteri ini sensitif terhadap rifampisin, gentamisin, kloramfenikol, dan eritromisin, tetapi resisten terhadap furazolidon pada dosis 25 mg/L. Hingga konsentrasi 10^9 cfu/mL, isolat BL542 tidak patogen pada larva udang windu stadia PL-7 dan dapat menghambat *V. harveyi* dalam air pemeliharaan larva udang windu. Hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA, menunjukkan bahwa isolat BL542 memiliki kemiripan (88%) dengan *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1.

ABSTRACT: *Characterization 16S-rRNA gene and analysis of bactericidal effect of BL542 against V. harveyi in tiger shrimp (Penaeus monodon). By: Muliani, Nurhidayah, and Muharijadi Atmomarsono*

The aims of this experiment were to characterize, analyze the relative position using 16S-rRNA gen sequencing, and evaluate bactericidal effect of BL542 bacteria. The experiment consisted of several steps; (1) biochemical and physiological characterization, (2) antibiotic sensitivity test, (3) inhibition test of BL542 bacteria to V. harveyi, (4) pathogenicity test of BL542 bacteria to tiger shrimp larvae, (5) in vitro and in vivo challenge test of BL542 bacteria against V. harveyi (6) 16S-rRNA gen analysis of BL542 bacteria. The results showed that BL542 bacteria was gram negative, short-rod shape, indole negative, non motile, catalase negative, and cytochrome oxidase positive, proteolytic, amylolytic, and chytolytic. This bacteria was sensitive to rifampicin, gentamicin, chloramphenicol and erythromycin but resistant to furazolidone at 25 mg/L. Up to concentration of 10^9 cfu/mL, BL542 was not pathogenic to tiger shrimp of PL7 and had inhibitory effect on the growth of V. harveyi in the larvae rearing water. Based on 16S-rRNA sequencing, BL542 isolat was closely related (88%) to DNA sequence of Pseudoalteromonas sp. Edeep-1.

KEYWORDS: *16S-rRNA gene, bactericide, Vibrio harveyi, Pseudoalteromonas sp. Edeep-1, tiger shrimp*

PENDAHULUAN

Penyakit vibriosis pada udang windu bukan hanya terjadi di Indonesia, tetapi juga di negara-negara tetangga seperti Filipina (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990), Thailand (Jiravanichpaisal *et al.*, 1994; Ruangpan, 1998), dan India (Karunasagar *et al.*, 1994).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan metode pencegahan dan penanggulangan penyakit pada udang windu antara lain dengan menggunakan obat-obatan dan antibiotik sebagai anti bakteri (Karunasagar *et al.*, 1994). Pencegahan melalui pengelolaan limbah budi daya

udang dengan menggunakan tandon dan biofilter (Chanratchakool *et al.*, 1995; Muliani *et al.*, 1998a), merangsang kekebalan non-spesifik melalui penggunaan vaksin dan imunostimulan (Itami & Takahashi, 1991; Sung *et al.*, 1994; Devaraja *et al.*, 1998; Salfira, 1998; Vargas-Albores *et al.*, 1998), penggunaan probiotik (Austin & Day, 1990; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1998; Rengpipat *et al.*, 1998; Maeda, 1999), serta penggunaan bahan aktif sponge dan hydrozoan sebagai antibakteri (Ahmad *et al.*, 1995; Muliani *et al.*, 1998b; Suryati *et al.*, 2000).

Pemanfaatan beberapa jenis bakteri yang diisolasi dari berbagai sumber sebagai biokontrol (Devaraja *et*

al., 2002) dan penghasil antivibriosis, beberapa tahun terakhir ini telah mulai dirintis. Oclarit *et al.* (1994) telah mengisolasi bakteri penghasil antibakterial, *o-Aminiphenol* dari sponge, *Adocia* sp. Tjahyadi *et al.* (1994) melaporkan bahwa populasi *V. harveyi* di lingkungan pemeliharaan udang dapat ditekan dengan cara mengintroduksi bakteri tertentu yang diisolasi dari perairan laut di sekitar tambak atau pembenihan udang. Selanjutnya Rosa *et al.* (1997) mengisolasi bakteri penghambat *V. harveyi* dari air laut, air tambak, dan air media pemeliharaan larva. Hala (1999) mengemukakan bahwa *V. metschnikovii* Z dan M yang diisolasi dari larva udang sehat efektif menghambat pertumbuhan dan pelekatan *V. carchariae* YA32.2 (patogen terhadap larva udang) dan dapat mengurangi jumlah larva udang yang mati. Haryanti *et al.* (2000) telah mengisolasi tiga isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada medium agar dalam cawan petri dan satu di antara tiga isolat tersebut mampu menekan pertumbuhan *V. harveyi* pada media pemeliharaan larva udang. Sedangkan Muliani *et al.* (2003), telah mengisolasi sedikitnya 15 isolat bakteri laut, baik dari sedimen, air, dan karang yang potensial menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* patogen udang windu. Beberapa isolat bakteri yang diisolasi dari daun mangrove (Muliani *et al.*, 2004) dan tambak (Muliani, 2004b) juga telah dilaporkan memiliki daya hambat terhadap *V. harveyi*. Meskipun demikian pemanfaatan bakteri-bakteri tersebut belum maksimal karena adanya beberapa kendala di antaranya optimalisasi pertumbuhan, kemampuan beradaptasi, dan konsistensi antivibriosis yang dimiliki belum diketahui. Oleh karena itu, karakterisasi dan identifikasi baik secara fisiologi maupun biokimia serta evaluasi sifat bakterisida suatu jenis bakteri perlu dilakukan untuk lebih mempermudah kajian konsistensi dari sifat bakterisida yang dimiliki.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan mengevaluasi sifat bakterisida serta menentukan posisi relatif isolat BL542 melalui analisis gen 16S-rRNA.

BAHAN DAN METODE

Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi fisiologi dan biokimia isolat BL542 yang dilakukan adalah pewarnaan gram, oksidase, katalase, indol, motilitas, aktivitas amilolitik, aktivitas protease, dan aktivitas kitinase (Hadioetomo, 1993; Muir, 1996).

Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik

Isolat BL542 diuji sensitivitasnya terhadap gentamisin, klorampenikol, eritromisin, furazolidon, dan rifampisin pada konsentrasi 25 mg/mL. Setiap jenis

antibiotik tersebut dicampurkan dalam media SWC (*Sea Water Complete*) 100% (air laut 750 mL, akuades 250 mL, bakto pepton 5 g, ekstrak khamir 1 g, gliserol 3 mL, dan bakto agar 15 g) dalam cawan petri yang selanjutnya digunakan sebagai media biakan. Sensitivitas isolat BL542 ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media yang telah dibubuhi dengan antibiotik (minimal 48 jam masa inkubasi).

Uji Daya Hambat Isolat BL542 terhadap *V. harveyi*

Bakteri *V. harveyi* MR5339 ditumbuhkan pada medium TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar*) selama 24 jam. Koloni tunggal yang tumbuh diambil dengan jarum ose dan disuspensikan dalam larutan garam fisiologis (0,85% (w/v) NaCl). Kemudian disebar pada media SWC 100% dalam cawan petri, selanjutnya ditaruh *paper disk* steril yang berdiameter 7 mm. *Paper disk* ditetesi dengan biakan isolat BL542 sebanyak 10–20 mL (konsentrasi biakan dalam suspensi sekitar 10^8 – 10^9 cfu/mL). Kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 24–48 jam, setelah itu zona hambatan yang terbentuk diukur dengan mistar penggaris pada tiga posisi dan selanjutnya diratakan.

Uji Patogenisitas Isolat BL542 terhadap Larva Udang pada Konsentrasi yang Berbeda

Konsentrasi isolat BL542 yang digunakan pada uji patogenisitas adalah 10^3 , 10^5 , 10^7 , dan 10^9 cfu/mL dengan metode perendaman (Hameed, 1995). Wadah yang digunakan adalah stoples kaca berkapasitas 3 L yang diisi air laut steril dengan kadar garam 28 ppt sebanyak 2 L dan ditebari dengan larva udang sebanyak 20 ekor/wadah.

Untuk menjaga ketersediaan oksigen, wadah pemeliharaan larva dilengkapi dengan aerasi. Pemberian pakan dilakukan sebanyak dua kali per hari sebanyak 10% bobot tubuh larva udang. Patogenisitas isolat BL542 terhadap larva udang windu diamati melalui kematian larva udang setelah 24 jam perendaman (Rengpipat *et al.*, 1998) dan dibandingkan dengan kontrol. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap dengan tiga kali ulangan. Sintasan larva udang dianalisis ragamnya dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (Steel & Torrie, 1981).

Uji Tantang Bakteri *V. harveyi* dengan isolat BL542

Uji tantang secara *in vitro*

Uji tantang secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan media SWC kaldu 100% (air laut 750

mL, akuades 250 mL, bakto pepton 5 g, ekstrak khamir 1 g, gliserol 3 mL) dalam labu erlenmeyer. Kepadatan bakteri *V. harveyi* dibuat menjadi 10^7 cfu/mL (Rengpipat *et al.*, 1998) dan kepadatan bakteri BL542 dibuat menjadi 10^8 cfu/mL (Tjahyadi, 1994; Hala, 1999; Muliani *et al.*, 2003). Populasi *V. harveyi* dalam wadah diamati pada hari ke-1, 2, 3, dan 4 dengan menggunakan SWC 100% yang telah ditambah rifampisin sebagai media selektif.

Ujiantang secara *in vivo*

Ujiantang secara *in vivo* dilakukan di dalam akuarium kaca dengan kapasitas 3 L. Wadah tersebut diisi air laut steril dengan kadar garam 28 ppt sebanyak 2 L, dan ditebari larva udang stadia PL-7 sebanyak 20 ekor/wadah. Perlakuan dalam penelitian ini terdiri atas *V. harveyi* (10^7 cfu/mL) ditantang dengan BL542 dengan kepadatan 10^8 cfu/mL, monokultur *V. harveyi* (10^7 cfu/mL), dan monokultur larva udang (tidak diinokulasi bakteri). Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Pengamatan populasi bakteri dalam air pemeliharaan larva udang dilakukan setiap 24 jam, sedangkan pengamatan larva udang yang mati dilakukan setelah 96 jam (hari ke-4). Perbedaan tingkat mortalitas larva udang windu setelah 96 jam dianalisis ragam dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (Steel & Torrie, 1981).

Identifikasi Isolat BL542 secara Molekuler

Untuk menentukan identitas isolat BL542 berdasarkan sekuen 16S-rRNA, dilakukan analisis yang meliputi beberapa tahapan sesuai dengan metode yang dikemukakan oleh Marchesi *et al.* (1998) dan telah dimodifikasi oleh Suwanto *et al.* (2000) yaitu meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR, *gene clean* dengan metode *glass milk*, *cycle sequencing* dengan metode *Big Dye*, presipitasi DNA, dan sekuensing dengan mesin *Sequencer*.

Ekstraksi DNA

Isolat BL542 ditumbuhkan dalam media SWC kaldu. Kultur diinkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 28°C, 10.000 rpm selama 24 jam. Sel bakteri dipanen dengan mengambil 1 mL suspensi biakan bakteri, lalu dimasukkan ke dalam Eppendorf volume 1,5 mL. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 5 menit dan supernatannya dibuang. Hal ini dilakukan dua kali. Pelet bakteri yang terbentuk kemudian diresuspensi dengan 250 mL buffer 1xTE dan 2 mg/L lisozim, diinkubasi 37°C selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan SDS 10% sebanyak 50 mL dan 5 mL Proteinase-K, dibolak-balik sampai bening berlendir. Campuran ini diinkubasi pada suhu 37°C selama satu jam (tiap 15 menit dikocok). Setelah itu

ditambahkan 65 mL NaCl 5 M, dibolak-balik sehingga tercampur dengan baik, kemudian ditambahkan 80 mL CTAB 10%. Dihomogenkan sampai berwarna putih susu, kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 20 menit. Selanjutnya ke dalam campuran tersebut ditambahkan 650 mL phenol:chloroform:isoamyl alkohol (25:24:1), dihomogenkan dengan vorteks selama 30 detik, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm pada suhu ruang selama 10 menit. Supernatan diambil dengan mikro pipet dan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf steril yang telah diisi dengan 600 mL isopropanol dan dibolak-balik sehingga timbul benang-benang DNA dan dibiarkan pada suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm pada suhu ruang dan setelah itu supernatan dibuang. DNA dalam bentuk pelet dicuci dengan 300 mL ethanol 70%, disentrifugasi selama 5 menit pada suhu ruang dan setelah itu etanol dibuang. Pelet DNA dikering-udarkan atau dengan menggunakan pompa vakum untuk menguapkan etanol yang masih tersisa. Langkah terakhir dalam ekstraksi DNA adalah penambahan akuabides bebas nuklease atau buffer 1xTE atau Elution Buffer (EB) dan selanjutnya DNA disimpan pada suhu -20°C untuk keperluan selanjutnya.

Amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR

Sebelum dilakukan amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR, terlebih dahulu dilakukan pengecekan terhadap DNA yang telah diekstrak melalui elektroforesis gel mini (Suwanto *et al.*, 2000) atau dengan *gene Quant*. Amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR digunakan *Ready to go PCR beads* dengan komponen reaksi terdiri atas ddH₂O 23 mL, DNA templet 0,5 mL; 1 mL 63f primer; dan 1 mL 1387r primer. Primer yang digunakan adalah primer universal untuk domain bakteri berupa Forward primer 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTA-3') dan reverse primer 1387r (GGGCGGWTGGTACAAGGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998; Suwanto *et al.*, 2000). Semua komponen reaksi dicampur dalam mikrotube dan selanjutnya di *running*. Proses *running* pada PCR dilakukan dalam 30 siklus, di mana masing-masing siklus terdiri atas tahap *pre start* pada suhu 94°C selama 2 menit, tahap denaturasi DNA utas ganda pada suhu 92°C selama 30 detik, tahap *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, dan tahap perpanjangan pada suhu 75°C selama 1 menit, tahap post PCR pada suhu 75°C selama 20 menit, dan tahap stop PCR pada suhu 4°C. Selanjutnya hasil PCR disimpan pada suhu -20°C (Suwanto *et al.*, 2000).

Pemurnian DNA

Pada tahapan ini DNA yang telah diamplifikasi dengan PCR di *running* dalam elektroforesis kemudian dimurnikan dengan metode *glass milk*.

Cycle sequencing, presipitasi, dan sekuensing DNA

Pada tahapan ini pereaksi dan langkah kerja dilakukan berdasarkan metode yang dilaporkan oleh Marchesi *et al.* (1998) yang telah dimodifikasi oleh Suwanto *et al.* (2000).

HASIL DAN BAHASAN

Karakteristik Isolat BL542

Isolat BL542 diisolasi dari sedimen laut Pulau Balam Lombo, Sulawesi Selatan pada bulan Juli 2001. Isolat ini memiliki ciri-ciri morfologi koloni, berbentuk bundar kecil, tepian licin, elevasi cembung, dan berwarna kuning muda. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat BL542 termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif, sel berbentuk batang, oksidase positif, katalase negatif, indol negatif, tidak bersifat motil, bersifat fermentatif dan amilolitik, dan memproduksi enzim kitinase dan protease. Isolat ini tumbuh pada suhu 40°C, tetapi tidak tumbuh pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Agar* (TCBS-Agar). Pertumbuhan isolat ini pada media SWC agar disajikan pada Gambar 1.

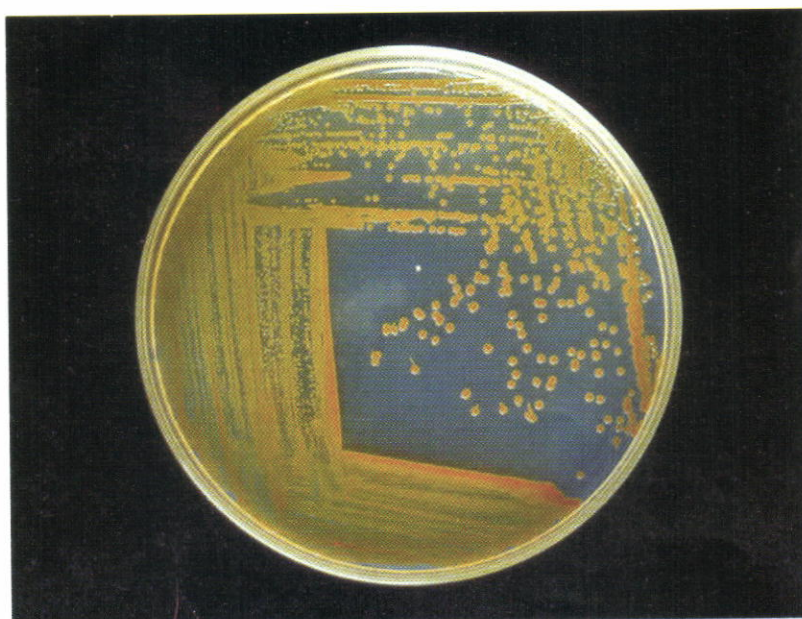
Resistensi Isolat BL542 terhadap Beberapa Antibiotik

Sifat resistensi terhadap antibiotik diperlukan oleh suatu mikroorganisme untuk mempertahankan sintasannya di alam. Menurut Chythanya *et al.* (1999),

secara alami beberapa jenis mikroorganisme memiliki gen penyandi antibiotik yang dapat melindungi dirinya dari efek pengaruh antibiotik luar. Sifat resistensi terhadap suatu jenis antibiotik dari suatu bakteri perlu diketahui sebelum ditetapkan jenis antibiotik yang akan digunakan sebagai penanda genetik terhadap bakteri tersebut. Hal ini akan memudahkan untuk menyeleksi bakteri tersebut dari bakteri lain yang secara alami sensitif terhadap antibiotik yang digunakan.

Hasil uji sensitivitas isolat BL542 terhadap beberapa antibiotik menunjukkan bahwa isolat tersebut sensitif terhadap rifampisin, gentamisin, kloramfenikol, dan eritromisin dosis 25 mg/L dan bersifat resisten terhadap furazolidon pada dosis yang sama. Muliani *et al.* (2003) telah mengisolasi beberapa jenis bakteri dari air laut dan karang furazolidon termasuk antibiotik yang dilarang keras penggunaannya dalam bidang akuakultur, karena meskipun antibiotik ini tidak bertahan lama dalam air dan cepat terdegradasi, namun antibiotik ini bersifat mutagenik terhadap beberapa organisme (Sze, 2000). Hasil uji sensitivitas sedikitnya 15 isolat bakteri laut yang diisolasi dari air laut, karang, dan sedimen semuanya bersifat sensitif terhadap gentamisin, kloramfenikol, dan eritromisin pada dosis 25 mg/L, dan beberapa di antaranya resisten terhadap furazolidon (Muliani *et al.*, 2003).

Hasil uji resistensi terhadap antibiotik, tetrasiklin, dan rifampisin dari 45 isolat bakteri yang diisolasi baik dari air laut maupun air pemeliharaan larva udang yang dilakukan oleh Tjahjadi *et al.* (1994) menunjukkan



Gambar 1. Penampilan isolat BL542 pada media sea water complete
Figure 1. Performance of BL542 isolate on sea water complete medium

bahwa semua isolat bersifat resisten terhadap tetrasiklin tetapi hanya beberapa di antaranya yang resisten terhadap rifampisin. Beberapa isolat *Vibrio* yang diisolasi dari panti perbenihan udang bersifat sensitif terhadap gentamisin dan rifampisin (Hala, 1999).

Uji Daya Hambat Isolat BL542 secara *In Vitro* pada Cawan Petri

Hasil uji daya hambat secara *in vitro* dalam cawan petri menunjukkan bahwa isolat BL542 mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 dengan diameter zona hambatan sebesar 11,5 mm. Muliani (2003) telah mengisolasi beberapa bakteri dari air laut, sedimen laut, dan karang dengan kisaran daya hambat 1,1—11,5 mm.

Berdasarkan hasil uji daya hambat dari filtrat sel isolat BL542 yang tidak menunjukkan aktivitas bakterisida, maka diduga bahwa bakterisida yang dimiliki oleh bakteri ini bersifat intraseluler. Hal yang serupa telah dilaporkan oleh Manefield *et al.* (2000) di mana suatu senyawa yang dihasilkan secara intra seluler oleh *marine algae* (*Deliscea pulchra*), *halogenated furanone* dapat menghambat ekspresi luminescens dan virulensi *V. harveyi* yang patogen pada udang windu.

Patogenisitas Isolat BL542 terhadap Larva Udang

Sebelum dilakukan uji tantang dengan *Vibrio harveyi* MR5339 dalam wadah pemeliharaan larva udang windu, isolat BL542 diuji tingkat patogenisitasnya terhadap larva udang windu pada beberapa konsentrasi (Tabel 1). Pada tabel tersebut terlihat bahwa sampai konsentrasi 10⁹ cfu/mL, isolat BL542 tidak bersifat patogen terhadap larva udang. Hal ini dapat diketahui dengan melihat sintasan larva udang pada semua perlakuan tidak berbeda nyata

secara statistik (P>0,05) terhadap kontrol (tanpa pemberian bakteri).

Hasil penelitian oleh beberapa peneliti terdahulu menunjukkan bahwa pada umumnya bakteri yang diisolasi dari air laut dan tambak yang potensial sebagai biokontrol tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Rosa *et al.* (1997) mengemukakan bahwa pada kepadatan 10⁵, 10⁶, 10⁷, dan 10⁸ cfu/mL selama 24 jam perendaman semua bakteri kandidat biokontrol yang diuji patogenisitasnya tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Demikian pula yang dihasilkan oleh Haryanti *et al.* (2000), isolat BY-9 sebagai biokontrol tidak bersifat patogen pada larva udang windu setelah inkubasi 12 jam pada konsentrasi 10⁵ cfu/mL.

Uji Tantang Isolat BL542 terhadap *V. harveyi* MR5339

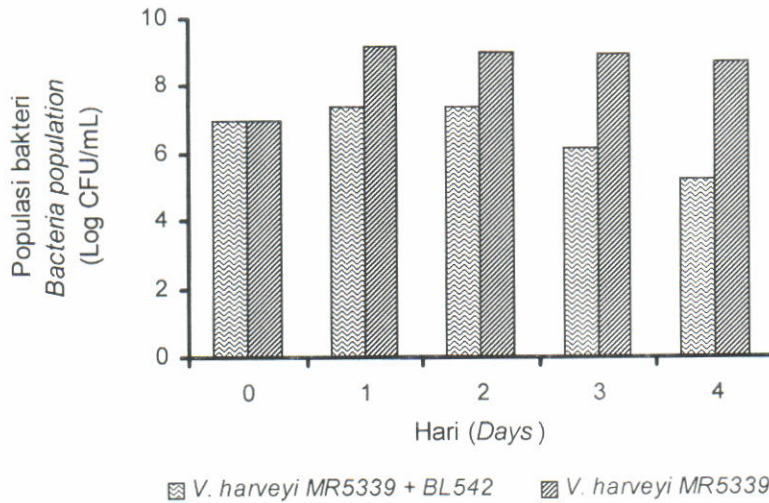
Uji tantang secara *in vitro*

Uji tantang secara *in vitro* dilakukan menggunakan media kaldu SWC 100%, dengan kepadatan *V. harveyi* MR5339 10⁷ cfu/mL dan isolat BL542 10⁸ cfu/mL. Berdasarkan hasil uji pendahuluan konsentrasi di bawah 10⁹ cfu/mL, isolat BL542 tidak efektif menghambat perkembangan populasi *V. harveyi*. Hasil uji tantang secara *in vitro* disajikan pada Gambar 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa populasi *V. harveyi* MR5339 pada perlakuan kombinasi *V. harveyi* MR5339 dengan isolat BL542 menurun dari 10⁷ cfu/mL pada hari ke-0 menjadi 1,8 x 10⁵ cfu/mL pada hari keempat, sedangkan pada perlakuan tunggal *V. harveyi* MR5339 tidak mengalami penurunan, bahkan terjadi peningkatan sejak pada hari ke-1 sampai hari ke-4. Puncak perkembangan populasi *V. harveyi* MR5339 pada perlakuan tunggal terjadi pada hari ke-2 (setelah 24 jam) yaitu mencapai 1,6x10⁹ cfu/mL. Rendahnya populasi *V. harveyi* MR5339 pada perlakuan kombinasi *V. harveyi* MR5339 dengan isolat

Tabel 1. Rata-rata mortalitas (%) larva udang pada uji patogenisitas isolat BL542 setelah 24 jam perendaman
 Table 1. Average mortality rate (%) of tiger shrimp in the pathogenecity test of BL542 bacteria after 24 hours of immersion

Konsentrasi sel (cfu/mL) Cell concentration (cfu/mL)	Mortalitas udang windu (%) Tiger shrimp mortality (%)
0	6.67 ^a
103	5.00 ^a
105	6.67 ^a
107	6.67 ^a
109	12.00 ^a

Keterangan: Nilai dalam kolom yang diikuti huruf yang sama secara statistik tidak berbeda nyata (P>0,05)
 Note: Values in the columns followed by similar letters are notsignificantly different (P>0.05)



Gambar 2. Perkembangan populasi *V. harveyi* MR5339 pada uji tantang secara in vitro
 Figure 2. Population growth of *V. harveyi* MR5339 challenged with BL542 bacteria

BL542 menunjukkan bahwa isolat BL542 efektif menekan perkembangan populasi *V. harveyi* MR5339.

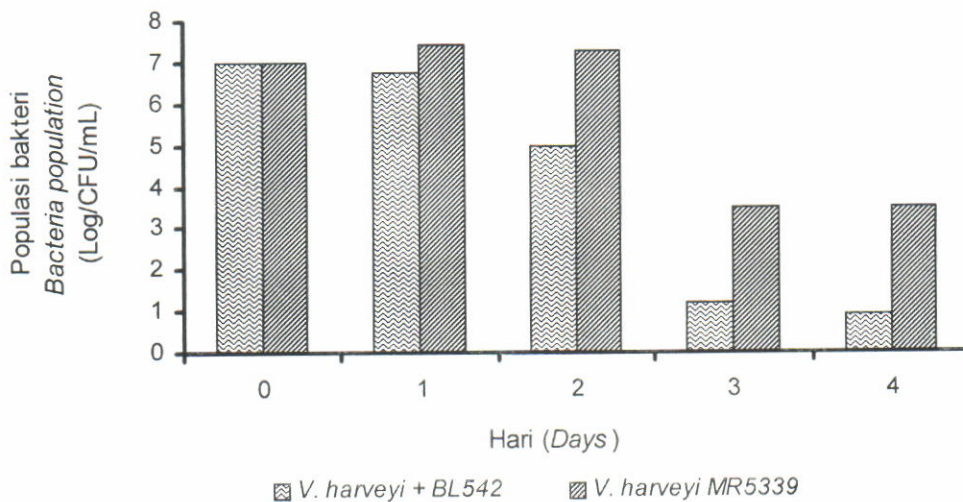
Uji tantang secara in vivo

Uji tantang secara *in vivo* dilakukan dengan menggunakan larva udang windu PL-7. Parameter yang diamati adalah populasi *V. harveyi* MR5339 dalam media pemeliharaan dilakukan setiap 24 jam selama 96 jam dan jumlah larva udang yang mati dilakukan setelah 96 jam.

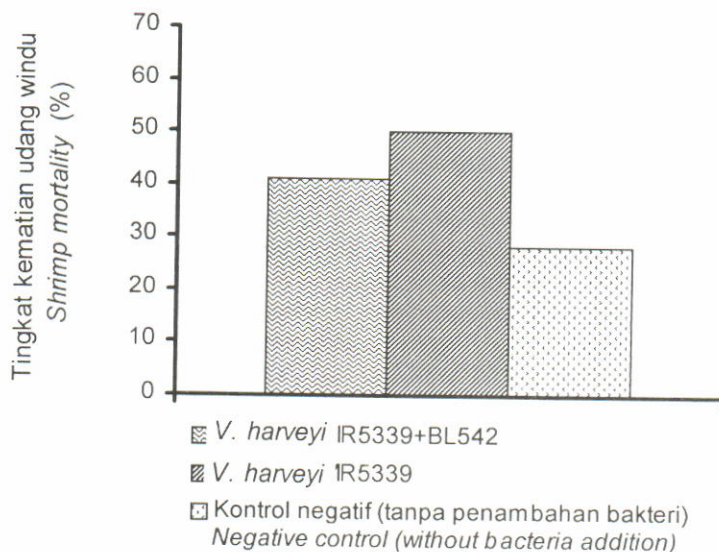
Populasi *V. harveyi* MR5339 dalam air pemeliharaan larva udang PL-7 selama penelitian disajikan pada Gambar 3. Dari gambar tersebut terlihat bahwa Populasi *V. harveyi* MR5339 dalam media pemeliharaan yang diberi bakteri BL542 dari

awal sampai akhir penelitian lebih rendah dibandingkan dengan populasi *V. harveyi* MR5339 dalam media pemeliharaan yang tidak diberi bakteri BL542.

Pengamatan jumlah larva yang mati dilakukan setelah 96 jam. Jumlah larva yang mati pada setiap perlakuan disajikan pada Gambar 4. Dari gambar tersebut terlihat bahwa secara deskriptif mortalitas larva udang tertinggi pada perlakuan yang diinokulasi *V. harveyi* MR5339 tanpa pemberian bakteri BL542 kemudian berturut-turut pada perlakuan yang diinokulasi *V. harveyi* MR5339 ditambah isolat BL542, kemudian kontrol negatif (tidak ada penambahan bakteri, baik *V. harveyi* MR5339 maupun bakteri BL542). Hal ini senada dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Abraham (2004), di mana mortalitas



Gambar 3. Populasi *V. harveyi* MR5339 dalam air pemeliharaan larva udang windu pada uji tantang in vivo
 Figure 3. Population of MR5339 in the rearing water of tiger shrimp larvae in *in vivo* challenged



Gambar 4. Rata-rata jumlah larva udang yang mati (%) setelah 96 jam inokulasi
 Figure 4. Average mortality rate of tiger shrimp larvae after 96 hours of inoculation

larva udang windu tertinggi pada perlakuan yang diinokulasi dengan *V. harveyi* M3 tanpa pemberian *Alteromonas* sp. P7, kemudian berturut-turut pada perlakuan yang diinokulasi *V. harveyi* M3 ditambah *Alteromonas* sp. P7, kemudian terendah pada kontrol negatif (tidak ada penambahan bakteri, baik *V. harveyi* M3 maupun *Alteromonas* sp. P7).

Namun demikian hasil analisis statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) terhadap tingkat kematian larva udang pada semua perlakuan. Hal ini diduga karena kondisi dari larva udang yang lemah sehingga pada kontrol (tanpa bakteri) larva udang juga mengalami kematian. Efek bakteri biokontrol tentunya akan lebih terlihat seandainya larva udang yang digunakan dalam kondisi yang baik dan bebas bakteri patogen. Sulitnya mendapatkan larva udang yang bebas patogen (*pathogens free larvae*) merupakan salah satu penyebab seringnya mendapatkan data-data yang kurang akurat pada uji bioessay semacam ini. Seperti halnya dalam penelitian ini larva udang yang digunakan sudah mengandung bakteri yang berasal dari kelompok *Vibrio* spp. yang tumbuh pada media TCBS Agar (warna hijau dan kuning meskipun tidak berpendar) pada konsentrasi 10^1 — 10^2 cfu/ekor, sehingga mempengaruhi efektivitas bakteri biokontrol dalam menekan kematian larva udang. Hal lain yang diduga menyebabkan tidak adanya perbedaan tingkat kematian larva udang pada perlakuan menggunakan isolat BL542 dan tanpa isolat BL542 adalah karena virulensi MR5339 pada larva udang windu menurun dibandingkan pada saat diisolasi. Ada kecenderungan bahwa semakin lama suatu jenis bakteri patogen udang disimpan, maka patogenitasnya semakin menurun.

Posisi Relatif Isolat BL542

Hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA dari isolat BL542 disajikan pada Lampiran 1. Dari lampiran tersebut dapat dilihat bahwa isolat BL542 termasuk dalam kelompok **Proteobacteria, sub divisi Gamma, famili Alteromonadaceae, genus Pseudoalteromonas, spesies Pseudoalteromonas sp. Edeep-1** dengan indeks kedekatan sebesar 88%. Data sekuen 16S-rRNA *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1 disajikan pada pada Lampiran 2. Jenis bakteri ini disampaikan atau dilaporkan (*submitted*) ke EMBL/GenBank/DDBJ database pada tanggal 13 Februari 2001 oleh seorang peneliti dari “Ocean Research Institute, Marine Ecosystem Dynamics”, Tokyo, Jepang yang bernama Kumiko Kita-Tsukamoto.

Selain memiliki aktivitas bakterisida, beberapa strain dari *Pseudoalteromonas* sp. juga telah dilaporkan memiliki aktivitas algisidal seperti *Pseudoalteromonas* sp. strain Y yang dapat menurunkan *blooming algae* (Lovejoy *et al.*, 1998). Sedangkan *Pseudoalteromonas* sp. strain A28 yang dapat membunuh *Skeletonema costatum* strain NIES-324 secara *in vitro* dalam cawan petri merupakan penghasil serin protease yang diproduksi secara ekstraseluler (Lee *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Isolat BL542 termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk batang, tidak patogen terhadap udang windu, dan berpotensi sebagai penghasil bakterisida terutama untuk *Vibrio harveyi* penyebab vibriosis pada udang windu. Hasil analisis sekuen gen penyandi 16S-rRNA, diketahui bahwa isolat BL542 memiliki kemiripan (88%) dengan *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrahm, T.J. 2004. Antibacterial marine bacterium deter luminous vibriosis in shrimp larvae. *NAGA. Worldfish Center Quarterly*, 27(3): 28—31.
- Ahmad, T., E. Suryati, and Muliani. 1995. Screening sponge for bactericide to be use in shrimp culture. *Ind. Fish. Res. J.*, 1: 1—10.
- Austin B. and J.G. Day. 1990. Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp. By a commercial spray-dried preparation of *Tetraselmis suecica*. *Aquaculture*, 90: 389—392.
- Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S.F. Smith, and C. Limsuwan. 1995. *Health Management in Shrimp Ponds*. 2nd Edition. Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries. Kasetsart University Campus. Bangkok, 111 pp.
- Chythanya, R., D.K.Nayak, and M.N. Venugopal. 1999. Antibiotic resistance in aquaculture. News from around the world. *Infodis International*, 6: 30—32.
- Devaraja, T.N., S.K. Otta, G. Shubha, I. Karunasagar, P. Tauro, and I. Karunasagar. 1998. Immunostimulation of shrimp through oral administration of *Vibrio* bacteri and yeast glucan. In *Flegel TW. (Ed.). Advances in shrimp biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, p. 167—170.
- Devaraja, T.N., F.M. Yussoff, and M. Shariff. 2002. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products. *Aquaculture*, 206: 245—256.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia, Jakarta, p. 62—68.
- Hala, Y. 1999. *Penggunaan Gen Penanda Molekular untuk Deteksi Pelekatan dan Kolonisasi Vibrio harveyi pada Larva Udang Windu (Penaeus monodon)* [Disertasi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor, Program Pascasarjana, 91 pp.
- Hameed, A.S.S. 1995. Susceptibility of three *Penaeus* species to a *Vibrio campbelli*-like bacterium. *J. World Aqua. Soc.*, 26: 315—319.
- Haryanti, K. Sugama, S. Tsamura, and T. Nishijima. 2000. Vibriostatic bacterium isolated from seawater: Potentiality as probiotic agent in the rearing of *Penaeus monodon* larvae. *Ind. Fish. Res. J.*, 6: 26—32.
- Itami, T., and Y. Takahashi. 1991. Survival of larval giant tiger prawns *Penaeus monodon* after addition of killed vibrio cell to a microencapsulated diet. *J. Aqua Anim. Health*, 3: 151—152.
- Jiravanichpaisal, P., T. Miyazaki, and C. Limsuwan. 1994. Histopathology, biochemistry, and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger prawn *Penaeus monodon*. *J. Aqua. Anim. Health*, 6: 27—35.
- Karunasagar, I., R. Pai, G.R. Malathi, and I. Karunasagar. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203—209.
- Lavilla-Pitogo, C.R., L.L. Baticados, E.R. cruz Lacierda, and L.D.de la Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture*, 91: 1—13.
- Lavilla-Pitogo, C.R., L.J. Albright, and M.G. Paner. 1998. Will microbial manipulation sustain the ecological balance in shrimp (*Penaeus monodon*) hatcheries?. In *Flegel T.W. (Ed.). Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, p. 185—192.
- Lee, S.O., J. Kato, N. Takiguchi, A. Kuroda, T. Ikeda, A. Mitsutani, and H. Ohtake. 2000. Involvement of an Extracellular protease in algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. Strain A28. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 4,334—4,339.
- Lovejoy, C., J.P. Bowman, and G.M. Hallegraef. 1998. Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolat (class proteobacteria, gamma subdivision) on harmful algal bloom species, of the genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 2,806—2,813.
- Maeda, M. 1999. *Microbial Proses in Aquaculture*. National Research Institute of Aquaculture. Nansei, Mie. 516-0193. Japan, 102 pp.
- Manefield, M., L. Harris, S.A. Rice, R.D. Nys, and S. Kjelleberg. 2000. Inhibition of luminescence and virulence in the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) pathogen *Vibrio harveyi* by intracellular signal antagonists. *Appl. Environ. Microbiol.*, 5: 2,079—2,084.
- Marchesi, J., R.T. Sato, A.J. Weightman, T.A. Martin, J.C. Fry, S.J. Hiom, and W.G. Wade. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-spesifik PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S-rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 795—799.
- Muir, P. 1996. *Identification of Vibrio and Pseudomonas Bacteria*. Department of Microbiology, Biomedical and Tropical Veterinary Science. James Cook University of North Queensland. Australia, 6 pp.
- Muliani, M. Atmomarsono, dan M.I. Madeali. 1998a. Pengaruh penggunaan kekerangan sebagai biofilter terhadap kelimpahan dan komposisi jenis bakteri pada budi daya udang windu (*Penaeus monodon*) dengan sistem resirkulasi air. *J. Pen. Per. Indonesia*, 3: 54—61.
- Muliani, E. Suryati, and T. Ahmad. 1998b. Penggunaan ekstrak spons untuk penanggulangan bakteri *Vibrio* spp. pada udang windu *Penaeus monodon*. *J. Pen. Per. Indonesia*, 1: 108—115.
- Muliani, Nurbaya, A. Tompo, dan M. Atmomarsono. 2004a. *Eksplorasi Bakteri Filosfer dari Tanaman Mangrove sebagai Bakteri Probiotik Pada Budidaya Udang Windu Penaeus monodon*. *J. Pen. Per. Indonesia*, 2: 51—61.
- Muliani, Nurbaya, A. Tompo, Nurhidayah, S. Endang, M.I. Madeali, dan M. Atmomarsono. 2004b. *Ekplorasi bakteri tambak sebagai bakteri probiotik pada budidaya udang windu. Laporan hasil penelitian Tahun Anggaran 2004*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, 20 pp.
- Oclarit, J.M., S. Ohta, K. Kamimura, Y. Yamaoka, and S. Ikegami. 1994. Production of an antibacterial agen, o-Aminiphenol, by a bacterium isolated from marine sponge, *Adocia* sp. *Fish. Sci.*, 60: 559—562.

- Rengpipat, S., S. Rukpratanporn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 1998. Probiotics in Aquaculture: A case study of probiotics for larvae of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In Flegel T.W. (Ed.). Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, p. 177—181.
- Rosa, D., Zafran, I. Taufik, and M.A. Girsang. 1997. Pengendalian *Vibrio harveyi* secara biologis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*): I. Isolasi Bakteri Penghambat. *J. Penel. Perik. Indonesia*, 3: 1—10.
- Ruangpan, L. 1998. Luminous bacteria associated with shrimp mortality. In Flegel T.W. (Ed.). Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, p. 205—211.
- Salfira. 1998. Pengaruh Pemberian LPS (Lipopolisakarida) dari Dinding Sel Bakteri *Vibrio harveyi* terhadap Gambaran Sistem Kekebalan Non-spesifik pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) [Tesis]. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1981. Principles and Procedures of statistics. A Biometrical Approach (2nd edition). International Student Edition. McGraw-Hill International Book Company, 633 pp.
- Sung, H.H., G.H. Kou, and Y.L. Song. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathol.*, 1: 11—17.
- Suryati, E., Rosmiati, W. Moka, and Y. Hala. 2000. Hydrozoan *Aglaophenia* sp. Bioactive Substance Analysis for Bactericide. *Ind. Fish. Res. J.*, 6: 55—61.
- Suwanto, A., Yogiara, D. Suryanto, I. Tan, and E. Puspitasari. 2000. Selected protocols. *Training Course on Advances in Molecular Biology Techniques to Assess Microbial Diversity*. Bogor, 28 pp.
- Sze, P.C. 2000. Antibiotic use in aquaculture: The Malaysian perspective. News from around the world. *Infofish International*, 2: 25—29.
- Tjahjadi, M.R, S.L. Angka, and A. Suwanto. 1994. Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial diseases in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon* Fab.). *Aspac. J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 2: 347—352.
- Vargas-Albores, F., J. Hernandez-Lopez, T. Gallas-Galvan, K. Montano-Perez, F. Jimenez-Vega, and G. Yepiz-Plascencia. 1998. Activation of shrimp cellular defence functions by microbial products. In Flegel T.W. (Ed.). *Advances in shrimp biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, p. 161—166.

Lampiran 1. Data hasil FASTA isolat BL542
Appendix 1. Data Result of isolat BL542 FASTA

FASTA searches a protein or DNA sequence data bank version 3.3t09 May 18, 2001
Please cite: W.R. Pearson & D.J. Lipman PNAS (1988) 85:2444-2448@:1-: 628 nt
EMBOSS_001 vs EMBL Prokaryote librarysearching
/ebi/services/idata/fastadb/em_pro library366331426 residues in 122962 sequences
statistics extrapolated from 60000 to 91471 sequences Expectation_n fit:
 $\rho(\ln(x)) = 0.3949 \pm 0.000216$; $\mu = 56.5105 \pm 0.018$
mean_var=1042.7002 \pm 229.356, 0's: 8 Z-trim: 14760 B-trim: 1950 in 2/75 Lambda=
0.0397FASTA (3.39 May 2001) function [optimized, +5/-4 matrix (5:-4)] ktup: 6
join: 52, opt: 37, gap-pen: -16/ -4, width: 16 Scan time: 13.090The best scores
are: opt bits E(91471)EM_PRO:[AB055794](#)
AB055794 Pseudoalteromonas sp. (1498) [f] 2326 151 4.3e-35EM_PRO:[AF159671](#)
AF159671 Uncultured marine eub (1014) [f] 2276 147 4.6e-34EM_PRO:[UGA311965](#)
AJ311965 Uncultured gamma pro (1412) [f] 2211 144 4.4e-33EM_PRO:[AF300975](#)
AF300975 Bacterium C16S 16S ri (1497) [f] 2156 141 3.7e-32EM_PRO:[AB022707](#)
AB022707 Adapted facultatively (595) [f] 2170 140 5.3e-32EM_PRO:[AARRNA16S](#)
X82135A. aurantia 16S rRNA ge (1436) [f] 2142 140 6.7e-32EM_PRO:[ACRNA16S](#)
X82137 A.citreus 16S rRNA gene (1436) [f] 2142 140 6.7e-32EM_PRO:[AF366040](#)
AF366040 Marine gamma proteoba (634) [f] 2152 139 1e-31EM_PRO:[AB022206](#)
AB022206 Marine adapted facult (614) [f] 2151 139 1.1e-31EM_PRO:[PSP414129](#)
AJ414129 Pseudoalteromonas sp (651) [f] 2141 139 1.5e-31EM_PRO:[AF118018](#)
AF118018 Pseudoalteromonas sp. (1495) [f] 2112 138 2.1e-31EM_PRO:[AF343945](#)
AF343945 Pseudoalteromonas sp. (741) [f] 2123 138 2.8e-31EM_PRO:[AY028199](#)
AY028199 Marine bacterium Tw-4 (1448) [f] 2106 138 2.8e-31EM_PRO:[AF227238](#)
AF227238 Pseudoalteromonas sp. (1502) [f] 2100 138 3.4e-31EM_PRO:[AB029824](#)
AB029824 Pseudoalteromonas sp. (1492) [f] 2100 138 3.4e-31EM_PRO:[HV15114](#)
U15114 Hydrothermal vent eubact (1461) [f] 2100 138 3.5e-31EM_PRO:[UBA295713](#)
AJ295713 Polar sea bacterium (1494) [f] 2091 137 4.9e-31EM_PRO:[AF172991](#)
AF172991 Pseudoalteromonas sp. (1386) [f] 2089 137 5.7e-31EM_PRO:[AF172989](#)
AF172989 Pseudoalteromonas sp. (1365) [f] 2088 137 6.1e-31EM_PRO:[AF172990](#)
AF172990 Pseudoalteromonas sp. (1384) [f] 2073 136 1.1e-30EM_PRO:[AF317746](#)
AF317746 Unidentified bacteriu (1466) [f] 2071 136 1.1e-30EM_PRO:[AF366001](#)
AF366001 Marine CFB-group bact (627) [f] 2082 135 1.7e-30EM_PRO:[AF343936](#)
AF343936 Pseudoalteromonas sp. (740) [f] 2076 135 1.8e-30EM_PRO:[AF366039](#)
AF366039 Marine gamma proteoba (627) [f] 2079 135 1.9e-30EM_PRO:[PSU85855](#)
U85855 Pseudoalteromonas sp. M (1449) [f] 2055 135 2.1e-30EM_PRO:[AF118019](#)
AF118019 Pseudoalteromonas sp. (1497) [f] 2052 135 2.3e-30EM_PRO:[AF022407](#)
AF022407 Pseudoalteromonas sp. (1464) [f] 2049 135 2.7e-30EM_PRO:[AF038846](#)
AF038846 Pseudoalteromonas gra (1515) [f] 2046 135 2.9e-30EM_PRO:[AB055788](#)
AB055788 Pseudoalteromonas sp. (1386) [f] 2039 134 4.2e-30EM_PRO:[AD16SRRNA](#)
X82138 A.denitrificans 16S rR (1424) [f] 2030 134 5.8e-30EM_PRO:[AB055785](#)
AB055785 Pseudoalteromonas sp. (1499) [f] 2025 133 6.7e-30EM_PRO:[PSP391204](#)
AJ391204 Pseudoalteromonas sp (1530) [f] 2023 133 7.2e-30EM_PRO:[AF297958](#)
AF297958 Pseudoalteromonas sp. (1483) [f] 2023 133 7.4e-30EM_PRO:[AF030381](#)
AF030381 Pseudoalteromonas sp. (1471) [f] 2023 133 7.4e-30EM_PRO:[AF297662](#)
AF297662 Pseudoalteromonas pis (1462) [f] 2023 133 7.5e-30EM_PRO:[AF297959](#)

Lampiran 1. Lanjutan

AF297959 *Pseudoalteromonas* pis (1460) [f] 2023 133 7.5e-30EM_PRO:[AF081498](#)
 AF081498 *Pseudoalteromonas* pis (1458) [f] 2023 133 7.5e-30EM_PRO:[PSP391190](#)
 AJ391190 *Pseudoalteromonas* sp (1407) [f] 2023 133 7.8e-30EM_PRO:[AF144036](#)
 AF144036 *Pseudoalteromonas* pis (1450) [f] 2022 133 7.9e-30EM_PRO:[AY028197](#)
 AY028197 Marine bacterium Tw-2 (1443) [f] 2021 133 8.2e-30EM_PRO:[PP16SRIB](#)
 X82215 *P.piscicida* 16S rRNA ge (1291) [f] 2023 133 8.5e-30EM_PRO:[PB16SRNAA](#)
 Z25522 *Pseudoalteromonas* tuni (1365) [f] 2019 133 9.4e-30EM_PRO:[AB022199](#)
 AB022199 Marine facultatively (619) [f] 2036 133 1e-29EM_PRO:[AF313497](#)
 AF313497 *Pseudoalteromonas* sp. (1398) [f] 2014 133 1.1e-29EM_PRO:[AF237977](#)
 AF237977 *Alteromonas* sp. MS23 (1460) [f] 2009 132 1.3e-29EM_PRO:[AF173963](#)
 AF173963 *Pseudoalteromonas* atl (1473) [f] 2004 132 1.6e-29EM_PRO:[PSP318943](#)
 AJ318943 *Pseudoalteromonas* sp (566) [f] 2024 132 1.8e-29EM_PRO:[AF295593](#)
 AF295593 *Pseudoalteromonas* sp. (1443) [f] 1989 131 2.9e-29EM_PRO:[AF227237](#)
 AF227237 *Pseudoalteromonas* sp. (1494) [f] 1987 131 3.1e-29EM_PRO:[ARRRNA16S](#)
 X82147 *A.rubra* 16S rRNA gene (1426) [f] 1987 131 3.2e-29EM_PRO:[AB055794](#)

AB055794 *Pseudoalteromonas* sp. **Edeep-1** (1498 nt) initn: 1434 init1: 536 opt:
 2326 Z-score: 751.9 bits: 150.6 E(): 4.3e-35 **88.291%** identity (95.060%
 ungapped) in 632 nt overlap (8-628:50-671)

Lampiran 2. Data sekuen 16S-rRNA *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1 ID AB055794 standard; DNA; PRO; 1498 BP.

XX
AC AB055794;
XX
SV AB055794.1
XX
DT 20-FEB-2001 (Rel. 66, Created)
DT 20-FEB-2001 (Rel. 66, Last updated, Version 1)
XX
DE *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1 gene for 16S rRNA.
XX
KW .
XX
OS *Pseudoalteromonas* sp. Edeep-1
OC Bacteria; Proteobacteria; gamma subdivision; Alteromonadaceae;
OC *Pseudoalteromonas*.
XX
RN [1]
RP 1-1498
RA Kita-Tsukamoto K., Radjasa O.K.;
RT ;
RL Submitted (13-FEB-2001) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases.
RL Kumiko Kita-Tsukamoto, Ocean Research Institute, Marine Ecosystems
RL Dynamics; 1-15-1 Minamidai, Nakano, Tokyo 164-8639, Japan
RL (E-mail:tukamoto@ori.u-tokyo.ac.jp, Tel:81-3-5351-6484, Fax:81-3-5351-6482)
XX
RN [2]
RA Radjasa O.K., Urakawa H., Kita-Tsukamoto K., Ohwada K.;
RT "Characterization of psychrotrophic bacteria in the surface and deep-sea
RT waters from the north-western Pacific Ocean based on 16S rDNA analysis";
RL Unpublished.
XX
FH Key Location/Qualifiers
FH
FT source 1..1498
FT /db_xref="taxon:152523"
FT /sequenced_mol="DNA"
FT /organism="Pseudoalteromonas sp. Edeep-1"
FT /strain="Edeep-1"
FT rRNA 1..1498
FT /product="16S rRNA"
XX
SQ Sequence 1498 BP; 390 A; 333 C; 454 G; 321 T; 0 other;
tgatcatggc tcagattgaa cgctggcggc aggcctaaca catgcaagtc gagcggtaac 60
atttctagct tgctagaaga tgacgagcgg cggacgggtg agtaatgct gggaaacatgc 120
ctfgaggtgg gggacaacag ttggaacga ctgctaatac cgcataatgt ctacggacca 180
aagggggcct cggctctcgc cttagattg gcccaagtgg gattagctag ttggtgaggt 240
aatggctcac caaggcgacg atccctagct ggtttgagag gatgatcagc cacactggga 300

Lampiran 2. Lanjutan

ctgagacacg	gcccagactc	ctacgggagg	cagcagtggg	gaatattgca	caatgggagc	360
aagcctgatg	cagccatgcc	gcgtgtgtga	agaaggcctt	cgggttgtaa	agcactttca	420
gtgcagggag	gaaaggctta	gtagttaata	cctgctagct	gtgacgttac	tcacagaaga	480
agcaccggct	aactccgtgc	cagcagccgc	ggtaatacgg	aggggtcggag	cgtaatacgg	540
aattactggc	cgtaaagcgt	acgcaggtgg	ttgttaagc	gagatgtgaa	agccccgggc	600
tcaacctggg	aactgcattt	cgaactggca	aactagagtg	tgalagaggg	tggtagaatt	660
tcaggtgtag	cggtgaaatg	cgtagagatc	tgaaggaata	ccgatggcga	aggcagccac	720
ctgggftaac	actgacgctc	atgtacgaaa	gcgtggggag	caaacaggat	tagataccct	780
ggtagtccac	gccgtaaccg	atgttacta	gaagctcggg	acctcggttc	tgttttcaa	840
agctaacgca	ttaagtagac	cgctgggga	gtacggccgc	aaggttaaaa	ctcaaatgaa	900
ttgacggggg	cccgcacaag	cggtggagca	tggtgttaa	ttcgtgcaa	cgcgaagaac	960
cttacctaca	cttgacatac	agagaactta	ctagagatgg	ttggtgctt	cgggaactct	1020
gatacaggtg	ctgcatggct	tgctgtcaag	ctcgtgttg	tgaaaatgtt	cgggtaaagt	1080
cccgcaacga	gcgcaacccc	tgatccttag	ttgctagcag	taatgctgag	aaactctaag	1140
gagactgccg	gtgataaacc	ggaggttaagg	tggggacgac	gtcaagtcca	tccatggccc	1200
ttacgtgtag	ggctacacac	gtgctacaat	ggcgcataca	gagtgctcgc	gaactcgcga	1260
gagtaagcga	atcacttaaa	gtgcgtcgta	gtccggattg	gagtgctgcaa	ctcgactcca	1320
tgaagtcgga	atcgctagta	atcgcgtatc	agaatgacgc	gggtaatacg	ttcccgggcc	1380
ttgtacacac	cgcccgtcac	accatggggag	tgggtgctc	cagaagtaga	tagtctaacc	1440
ctcgggagga	cgtttaccac	ggagtgattc	atgactgggg	tgaagtcgta	acaaggta	1498

