

ISOLASI DAN UJI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS *Phyllospongia lamellose* SERTA IDENTIFIKASI SECARA BIOKIMIA

Sela S. Lempoy¹⁾, Widya A. Lolo¹⁾, Paulina V. Y. Yamlean¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Sponges are one source of producing bioactive components from the sea. Bacteria Symbiosis with sponges are thought to have the potential to produce bioactive compounds that have been isolated from sponges. One of the potential of bioactive compounds which have been found and developed from sponges was antibacterial. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of bacteria associated with *Phyllospongia lamellose* sponges against pathogenic bacteria namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and then proceed with identification of biochemistry in isolates which showed the greatest inhibitory activity. Three isolates of sponges symbiont bacteria were obtained through the isolation and purification stage which were then followed by testing of antibacterial activity with paper disk diffusion method. The antibacterial test results showed the diameter of the inhibitory zone against *Staphylococcus aureus*, were: SL₁ (8.67 mm), SL₂ (9.33 mm) and SL₃ (9.00 mm) categorized as medium. Whereas the inhibition zone shown on *Escherichia coli* bacteria is also classified as medium, were: SL₁ (9.67 mm), SL₂ (9.00 mm) and SL₃ (9.33 mm). The three isolates continued to the identification stage biochemically. Each isolation was assumed as follows: *Desulfotomaculum* (SL₁), *Brochothrix* (SL₂) and *Sulfidobacillus* (SL₃).

Keyword : *Phyllospongia lamellose*, isolation, biochemically identification

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu sumber penghasil komponen bioaktif yang berasal dari laut. Bakteri yang bersimbiosis dengan spons diduga memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang telah diisolasi dari spons. Potensi senyawa bioaktif yang telah ditemukan dan dikembangkan dari spons salah satunya ialah sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan spons *Phyllospongia lamellose* terhadap bakteri patogen yakni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan kemudian dilanjutkan dengan identifikasi secara biokimia pada isolat yang menunjukkan daya hambat terbesar. Diperoleh 3 isolat bakteri simbiosis spons melalui tahap isolasi dan purifikasi yang kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri melalui metode difusi kertas cakram. Hasil uji antibakteri menunjukkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu: SL₁ (8.67 mm), SL₂ (9.33 mm) dan SL₃ (9.00 mm) termasuk dalam kategori sedang. Sedangkan zona hambat yang ditunjukkan terhadap bakteri *Escherichia coli* juga tergolong kategori sedang yaitu: SL₁ (9.67 mm), SL₂ (9.00 mm) dan SL₃ (9.33 mm). Ketiga isolat dilanjutkan ke tahap identifikasi secara biokimia. Masing-masing isolat diduga sebagai berikut: *Desulfotomaculum* (SL₁), *Brochothrix* (SL₂) dan *Sulfidobacillus* (SL₃).

Kata kunci : *Phyllospongia lamellose*, isolasi, identifikasi biokimia.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan organisme laut tidak hanya terbatas sebagai bahan makanan dan bahan kosmetik, namun berpotensi juga sebagai bahan obat alam (Achiruddin, 2005). Bakteri yang berasosiasi dengan spons dapat menghasilkan senyawa komponen bioaktif. Bioaktivasi senyawa hasil isolasi bakteri simbiosis spons meliputi antitumor, antivirus, antimikroba atau sifat umum sitotoksik (Oki *et al.*, 2014).

Identifikasi dapat dilakukan secara konvensional melalui karakterisasi biokimia dan mikroskopis sel bakteri, hingga berbasis molekuler. Penentuan genus isolat bakteri dapat ditentukan sesuai dengan literatur *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* yang disertai pengamatan mikroskopis melalui beberapa uji yakni uji biokimia dan uji morfologi.

METODE

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting, *scuba diving*, *zipper bag*, kamera bawah laut, wadah, *cooling box*, pisau, erlenmeyer (*Iwaki ST Pyrex*), timbangan digital (*ADAM*), gelas ukur (*Iwaki ST Pyrex*), gelas kimia, cawan petri (*Iwaki ST Pyrex*), autoklaf (*ALP*), pinset, spatula, bunsen, pipet tetes, *L-glass*, batang pengaduk, *laminar air flow* (*Biotek*), rak tabung reaksi, *rotary shaker incubator* (*Infors HT*), lumpang dan alu, tabung reaksi, lemari pendingin, plastik *wrap*, kertas label, *aluminium foil*, tisu, kasa, mikroskop cahaya, kaca objek, alat fotografi, kertas cakram kosong (*paper disc*), mikropipet (*Ecopipette*), jangka sorong, jarum ose, jas lab, kertas cakram antibiotik tetrasiklin.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu spons, bakteri uji *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*, media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, aquades, NaCl 0.9%, kristal violet, safranin, etanol 70%, lugol, *Triple Sugar Iron* (TSI), minyak imersi, *Simmon's Citrate Agar*, reagen *covac's*, hidrogen peroksida, *Lysin Iron Agar*.

Prosedur Kerja

Pengambilan sampel

Sampel spons diambil dari perairan teluk Manado menggunakan alat bantu menyelam. Sampel difoto dengan kamera bawah laut dan diambil lalu dimasukkan ke dalam *zipper bag* dan disimpan dalam *cooling box* berisi es batu untuk dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel yang didiambil dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dilakukan identifikasi secara morfologi di Laboratorium Taksonomi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan media yang digunakan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Ortez, 2005). Sedangkan jarum ose, pinset dan *L-glass* dipijarkan diatas api secara langsung.

Pembuatan media

1. Media *Nutrient Agar* (NA)

a. Media Pertumbuhan

Media padat dibuat dengan menimbang sebanyak 5.04 g NA kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dicukupkan dengan 180 mL aquades (28 g/ 1000 mL) lalu dikocok hingga homogen. Setelah homogen media

kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu didiamkan beberapa saat. Selanjutnya media dituang kedalam 12 cawan petri steril masing-masing 20 mL. Media yang telah padat pada cawan petri *diseal* menggunakan plastik *wrap* sehingga tidak terkontaminasi. Media ini digunakan untuk penanaman awal bakteri simbion dari sampel yang telah diencerkan secara berseri, isoalsi bakteri dan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

b. Media Pembenuhan

Pada media pembenuhan NA ditimbang sebanyak 2.52 g kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dicukupkan dengan 90 mL aquades (28 g/ 1000 mL) lalu dikocok hingga homogen. Setelah homogen media kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu didiamkan beberapa saat. Selanjutnya media dituang kedalam tabung reaksi steril masing-masing 10 mL (sebagai agar miring) dan didiamkan hingga media menjadi padat. Media pembenuhan ini digunakan untuk inokulasi mikroba.

2. Media Nutrient Broth (NB)

Media cair dibuat dengan menimbang NB sebanyak 0.72 g kemudian dimasukkan dalam gelas kimia dan dicukupkan dengan 90 mL aquades (8 g/ 1000 mL) lalu diaduk hingga homogen. Setelah homogen media cair kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu didiamkan beberapa saat. Selanjutnya media dituang kedalam erlenmeyer steril masing-masing 10 mL. Media ini akan digunakan untuk menginokulasikan bakteri simbion spons pada pengujian aktivitas antibakteri.

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Simbion

Sampel spons ditimbang 1 g lalu digerus menggunakan alu dan lumpang sampai halus.

Selanjutnya akan dilakukan pengenceran sampel sebesar 10^0 dengan memasukkan 1 g spons kedalam tabung reaksi yang sudah steril kemudian ditambahkan NaCl sebanyak 9 mL. Setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat untuk seri 10^{-1} dan 10^{-3} . Diambil 100 μ L dari masing-masing seri lalu disebar dalam cawan petri yang berisi media NA dan di inkubasi menggunakan inkubator pada suhu 27-29°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap koloni bakteri yang telah tumbuh secara makroskopik yaitu mengamati bentuk, warna dan ukuran koloni bakteri. Kemudian koloni-koloni yang terpilih dipisahkan kedalam media cawan petri steril berisi media NA dan di inkubasi selama 1x24 jam dengan inkubator pada suhu 27-29°C. Isolat bakteri murni yang diperoleh kemudian dipindahkan pada media miring NA sebagai stok.

Pembuatan Larutan Mc. Farland 0.5

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9.5 mL dicampurkan dengan larutan $BaCl_2$ 1.75% sebanyak 0.5 mL dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Borges *et al.*, 2004).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diambil dengan jarum ose steril kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 7 ml larutan NaCl 0.9%, hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland 0.5.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Penyiapan bakteri simbion dengan cara menginokulasikan 1 ose bakteri simbion kedalam 10 mL media NB lalu diinkubasi selama 1x24 jam dengan *rotary shaker incubator* pada suhu 27-29°C. Koloni bakteri

simbion dalam media cair NB masing-masing dipindahkan ke dalam tabung sentrifuge lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Hasil dari sentrifugasi akan membentuk supernatan yang kemudian akan diambil. Pada permukaan media disebarkan masing-masing bakteri uji sebanyak 100 µL, kemudian kertas cakram yang telah direndam dengan isolat bakteri simbion spons diletakkan pada permukaan media bersama dengan kontrol positif yaitu tetrasiklin dan kontrol negatif yaitu aquades. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Identifikasi Bakteri Simbion Melalui Uji Biokimia

1. Uji Katalase

Media NB ditimbang sebanyak 0.12 g dan dilarutkan dalam 15 mL aquades. Setelah itu media dihomogenkan lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 5 mL. Kemudian isolat bakteri diinokulasi menggunakan jarum ose ke dalam tabung reaksi yang berisi *Nutrient Broth*. Inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu tambahkan 3-4 tetes 3% hidrogen peroksida ke dalam media biakan. Diamati bila terjadi pembentukan gelembung maka uji ini bersifat positif.

2. Uji Sitrat

Media dibuat dengan menimbang *Simmon's citrate* sebanyak 0.36 g dan dicukupkan dalam 15 mL aquades. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media SCA dengan cara digores lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru dan uji bersifat negatif apabila tidak terjadi perubahan warna pada media.

3. Uji Lisin Dekarboksilase

Lysin Iron Agar ditimbang sebanyak 0.52 g dan dilarutkan dalam 15 mL aquades. Isolat bakteri diinokulasi dengan cara tusukan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning dan kembali menjadi ungu menandakan bahwa hasil terhadap uji ini positif. Sedangkan hasil negatif ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning.

4. Uji Fermantasi Karbohidrat

Media TSIA ditimbang sebanyak 1.82 g dan dicukupkan dalam 28 mL aquades. Setelah itu media dihomogenkan lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 7 mL. Isolat bakteri diinokulasikan kedalam media. Sisakan satu buah tabung yang tidak diinokulasi untuk digunakan sebagai kontrol, setelah itu semua diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

5. Uji Indol

Media dibuat dengan menimbang NA sebanyak 0.59 g dan dicukupkan dalam 21 mL aquades. Media yang telah homogen disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 7 mL. Isolat bakteri diinokulasikan ke media dengan cara ditusukkan menggunakan jarum ose sedalam $\frac{3}{4}$ bagian. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian reagen *covac's* ditambahkan sebanyak 0.2-0.3 mL lalu diamati. Hasil positif apabila media bewarna merah pada saat penambahan reagen.

6. Uji H₂S

Media TSIA ditimbang sebanyak 1.8 g dan dilarutkan dalam 28 mL aquades. Media yang telah homogen disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril

masing-masing sebanyak 7 mL. Setelah itu isolat bakteri diinokulasikan dengan cara digores lalu ditusuk. Masukkan dalam inkubator lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila terbentuk warna hitam pada media. Hasil negatif bila media berubah warna menjadi kuning.

7. Uji Motilitas

Media NA ditimbang sebanyak 0.59 g dan dicukupkan dengan 21 mL aquades lalu. Setelah itu media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan hingga sedikit mendingin. Media dituangkan kedalam masing-masing tabung reaksi steril sebanyak 7 mL. Kemudian isolat bakteri dinokulasikan ke dalam media dengan cara menusukkan jarum ose sampai ke dasar media dan tiap-tiap isolat diberikan kode pada masing-masing tabung. Dinkubasi pada 37° selama 24 jam. Hasil pengamatan dicatat, uji motilitas dinyatakan positif apabila pertumbuhan bakteri melebar dibekas tusukan jarum ose.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi Sampel

Sampel spons *Phyllospongia lamellose* yang diambil dari perairan teluk Manado dilakukan determinasi di Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Tujuan dilakukannya determinasi untuk mengetahui sampel yang diambil ialah tepat sehingga

terhindar dari kesalahan penggunaan sampel dalam penelitian. Hasil dari identifikasi sampel menunjukkan bahwa jenis spons yang hendak diteliti adalah spons *Phyllospongia lamellose*

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Symbion

Sampel spons yang digunakan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan aquades untuk menghilangkan kotoran dan mikroorganisme epifit agar koloni yang tumbuh pada media isolasi merupakan koloni bakteri symbion spons (Hafsari dan Asterina, 2013). Kemudian sampel dipotong kecil-kecil lalu digerus hingga halus menggunakan alu dan lumpang. Pengenceran NaCl secara bertingkat dimaksudkan agar bakteri yang dihasilkan tidaklah pekat. Hasil dari isolasi spons menunjukkan adanya pertumbuhan koloni-koloni bakteri pada media agar, kemudian dipilih 3 koloni bakteri yang berbeda berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan diberi kode SL₁, SL₂ dan SL₃. Lalu isolat-isolat tersebut dimurnikan lagi dengan menginokulasikannya ke media agar yang baru dan diinkubasi selama 1x24 jam.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Bakteri yang akan diuji disentrifugasi dengan tujuan untuk memperoleh bakteri yang aktif. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas. Penggunaan metode ini dikarenakan kemudahan dan kesederhanaannya saat dilakukan dan dengan metode difusi ini juga jumlah zat yang akan digunakan dapat diatur (Valgas *et al.*, 2007).

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening

Bakteri Uji	Diameter Zona Bening (mm)				
	K+	K-	SL ₁	SL ₂	SL ₃
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.67	0	8.67	9.33	9.00
<i>Escherichia coli</i>	18.00	0	9.67	9.00	9.33

Ket : K+ Kontrol positif; K- Kontrol negatif; SL₁ Isolat; SL₂ Isolat SL₃ Isolat

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dan jika ditinjau dari karakterisasi kekuatan daya antibakteri, maka diameter rata-rata zona bening isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Phyllospongia lamellose* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu: SL₁ (8.67 mm), SL₂ (9.33mm) dan SL₃ (9.00 mm) termasuk dalam kategori sedang. Pada diameter rata-rata zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang bersimbion dengan spons *Phyllospongia lamellose* terhadap bakteri *Escherichia coli* juga termasuk dalam kategori daya antibakteri sedang yaitu: SL₁ (9.67 mm), SL₂ (9.00 mm) dan SL₃ (9.33 mm). Kemampuan aktivitas antibakteri menurut Brooks *et al.* (2008), dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan juga salah satunya jenis bakteri yang dihambat. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak

lapisan peptidoglikan dan membentuk struktur yang tebal dan kaku juga mengandung asam teikoat. *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram negatif terdiri atas lapisan peptidoglikan yang relatif tipis, memiliki kandungan lipid yang banyak serta mempunyai porin yang berperan sebagai saluran masuknya zat aktif ke dalam sel bakteri, sehingga masuknya zat aktif ini dapat merusak aktivitas enzim dalam sel dan menyebabkan kerusakan sel serta dengan kadar lipid yang tinggi di dalam sel akan meningkatkan permeabilitas zat aktif ke dalam sel bakteri (Adila *et al.*, 2013). Menurut Tansil *et al* (2016), perbedaan struktur dinding sel sangat menentukan penetrasi, ikatan dan juga aktivitas senyawa dari antibakteri.

Identifikasi Secara Biokimia

Pengujian dilanjutkan pada identifikasi isolat bakteri melalui uji morfologi dan uji biokimia.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Isolat Bakteri Simbion

Kode Isolat	Karakteristik Bakteri	
	Bentuk Sel	Gram
SL ₁	Basil	Positif
SL ₂	Basil	Positif
SL ₃	Basil	Positif

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi sel bakteri melalui metode pewarnaan Gram. Ketiga isolat bakteri simbion merupakan Gram positif dengan bentuk basil. Feliatra *et al.*, (2004) mengatakan bahwa bakteri Gram positif merupakan bakteri yang memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis, sehingga pada saat bakteri mengalami dehidrasi dengan pemberian alkohol, pori-pori bakteri tersebut

akan mengkerut yang menyebabkan warna utama (kristal violet) tidak bisa keluar. Interaksi antara sel bakteri dengan kristal violet akan semakin kuat dengan ditambahkan lugol yang ketika dicuci dengan alkohol bakteri Gram positif akan tetap mengikat kompleks kristal violet-lugol sehingga menjadi warna ungu Prescott *et al.* dalam Hidayat (2011), akan tetapi bakteri Gram negatif akan kehilangan kompleks

kristal violet-lugol karena lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih tipis sehingga menjadi tidak berwarna. Ketika ditambahkan dengan safranin yang berwarna merah maka bakteri Gram negatif akan menyerapnya sedangkan bakteri Gram positif tidak akan menyerap pewarna lagi. Identifikasi bakteri dilakukan dengan teknik konvensional yaitu dengan membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah

teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri dengan ciri-ciri 100% serupa, maka dilakukan pendekatan bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru (Harrow dan Feltham, 2003).

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji Biokimia Terhadap Isolat Bakteri Symbion

Kode Isolat	Katalase	Sitrat	Lisin	Fermentasi Karbohidrat	Indol	H ₂ S	Motilitas
SL ₁	-	-	+	-	-	+	-
SL ₂	+	+	-	+	-	-	-
SL ₃	+	-	+	-	-	+	-

Ket : + Hasil pengujian positif; - Hasil pengujian negative; SL₁ Isolat; SL₂ Isolat; SL₃ Isolat

Uji biokimia pada isolat SL₁ menunjukkan hasil negatif terhadap uji katalase dan uji fermentasi karbohidrat namun menunjukkan hasil positif terhadap uji H₂S. Hasil yang diperoleh dilanjutkan dengan penentuan genus berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* yang menyimpulkan bahwa bakteri tersebut diduga sebagai bakteri *Desulfotomaculum*. Hal ini sejalan dengan Grimm *et al.*, (2002), yang menyatakan bahwa *Desulfotomaculum* merupakan kelompok bakteri yang menggunakan ion sulfat sebagai penghasil H₂S untuk kelangsungan hidup dari bakteri tersebut. Menurut Widyati (2017), *Desulfotomaculum* dapat dimanfaatkan dalam proses bioremediasi tanah bekas tambang batu bara yang dengan waktu inkubasi 20 hari dapat menunjukkan aktivitas penurunan konsentrasi sulfat sehingga tanah yang telah tercemar dapat kembali subur.

Pada uji biokimia isolat SL₂ diperoleh hasil positif terhadap uji katalase dan uji fermentasi karbohidrat. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri SL₂ diduga sebagai genus bakteri *Brochothrix* yang telah disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*.

Uji biokimia berikutnya yaitu pada isolat bakteri symbion spons *Phyllospongia lamellose* isolat SL₃, yang memperlihatkan hasil positif terhadap uji katalase serta hasil negatif terhadap uji fermentasi karbohidrat dan uji motilitas. Berdasarkan hasil tersebut selanjutnya disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* yang kemudian ditarik kesimpulannya bahwa isolat SL₃ diduga sebagai genus *Sulfidobacillus*. Hasil penelitian yang menduga bahwa isolat SL₃ merupakan bakteri *Sulfidobacillus* didukung dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rukmana dan Zulaika (2017) menunjukkan karakteristik dari bakteri *Sulfidobacillus* berdasarkan buku *Bergey's Manual of*

Determinative Bacteriology ialah sel bakteri berbentuk basil, termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif, motilitas negatif dan katalase positif.

Kesimpulan

Isolat bakteri simbiosis spons *Phyllospongia lamellose* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji yang termasuk dalam kategori sedang. Diameter rata-rata zona bening yang dihasilkan ketiga isolat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu: SL₁ (8.67 mm), SL₂ (9.33mm) dan SL₃ (9.00 mm). Sedangkan terhadap bakteri *Esherichia coli* yaitu: SL₁ (9.67 mm), SL₂ (9.00 mm) dan SL₃ (9.33 mm). Identifikasi secara biokimia terhadap ketiga isolat masing-masing teridentifikasi sebagai *Desulfotomaculum* (SL₁), *Brochothrix* (SL₂) dan *Sulfidobacillus* (SL₃).

DAFTAR PUSTAKA

- Achiruddin, I. 2005. Pemantauan Perubahan Garis Pantai di Pantai Timur Surabaya dengan Teknologi Penginderaan Jauh. *Jurnal Geoid*. **1(1)**: 81-86.
- Adila, R., Nurmiati., Agustien, A. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*. *Jurnal Biologi*. **2(1)**: 1-7.
- Borges, M. T dan Bresson, W. 2004. Delivery Methods for Introducing Endophytic Bacteria into Maize. *Biocontrol*. **49**: 315-322.
- Brooks, G. F., Butel. J. S., Morse S. A. 2008. *Medical Microbiology*. McGraw Hill, New York.
- Departemen Teknologi Hasil Perairan, Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Biologi. Karakterisasi Awal Inhibitor Protease dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Asal Pulau Panggang Kepulauan Seribu. 2006. **13(2)**: 58-64.
- Feliatra. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. **6(2)**: 75-80.
- Grimm, K dan Langendijk, P. 2002. Invitro Colonization of Sulfat Reducing Bacteria (SRB) on Resorbable Membranes for Periodantal Regeneration. *Journal Antimicrobial and Anti Inflammatory*. **3**:45.
- Hafsari, A. R. dan Asterina, I. 2013. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Obat Surian. *Jurnal Istek*. **7(2)**: 175-191.
- Harrow, G. I. dan Feltham. 2003. *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria 3th Edition*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Hidayat, H. 2011. *Karakterisasi Molekuler BAL Dengan Gen 16S rRNA Penghasil Enzim Protease Yang Berpotensi Sebagai Probiotik Dari Fermentasi Markisa Kuning di Sumatera Barat*. Universitas Andalas, Padang.
- John, G. H., Noel, R. K., Peter, H. A. S., James, T. S., Stanley, T. W. 1994 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. Baltimore The Williams & Wilkins Company, United States.
- Oki, W. D., Judianti, M. M., Fiqri, M. K., Ansyori-KM, G. T. 2014. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Demospongiae* dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains dan Matematika*. **2(2)**: 2302-7290.
- Oretz, J. H. 2005. *Disk Diffusion Testing in Manual of Antimicrobial Susceptibility*

Testing. American Society for
Microbiology, USA.

- Rukmana, G dan Zulaika, E. 2017. Isolasi bakteri Karbonoklastik dari Pegunungan Kapur. *Jurnal Sains dan Seni.* **6(2)**: 2337-3520.
- Tansil, A. Y. M., Edward, N., Jimmy, P., Robert, A. B. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona Squamosa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Esherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Biomedik.* **4(2)**.
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smania, E. F. A, and Artu, S. 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology.* **38**: 369-380.
- Widyati, E. 2017. Pemanfaatan Bakteri Sulfat untuk Bioremediasi Tanah Bekas Tambang Batubara. *Jurnal Biodiversitas.* **8(4)**: 283-286.