

**POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASOSIASI LAMUN
(SEAGRASS) DARI PULAU BONEBATANG PERAIRAN KOTA
MAKASSAR**

S K R I P S I



Oleh
Eka Lisdayanti
L111 09 262

Pembimbing :

Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si (Pembimbing Utama)

Dr. Ir. Arniati, M.Si (Pembimbing Anggota)

**JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2013

ABSTRAK

EKA LISDAYANTI, L111 09 262. “Potensi Antibakteri dari Bakteri Asosiasi Lamun (*Seagrass*) Dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar”. Di bawah bimbingan Abdul Haris selaku Pembimbing Utama dan Arniati selaku Pembimbing Anggota.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui morfologi koloni dan sel bakteri yang berasosiasi dengan lamun serta mengetahui potensi antibakteri dari bakteri asosiasi lamun terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi untuk bahan baku antimikroba dan bahan acuan untuk penelitian selanjutnya tentang identifikasi bakteri asosiasi yang berpotensi sebagai antibakteri.

Tahap awal dari penelitian ini adalah isolasi bakteri lamun yang tumbuh di Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar. Apabila biakan sudah murni dilakukan pewarnaan Gram berdasarkan petunjuk Cappucino dan Sherman (1987). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar (Brock dan Madigan (1991), dengan konsentrasi bakteri patogen uji sebanyak 200 μ L dan ekstrak isolat bakteri sebanyak 50 μ L.

Pada penelitian ditemukan sebanyak 54 isolat bakteri asosiasi lamun yang diisolasi dari enam jenis lamun yang berbeda. Dari 54 isolat tersebut, sebanyak 12 isolat berasal dari jenis *Enhalus acoroides*, 10 isolat dari *Halophila ovalis*, 9 isolat dari *Cymodocea rotundata*, 7 isolat dari *Halodule uninervis*, 7 isolat dari *Thalassia hemprichii* dan 9 isolat dari jenis *Syringodium isoetifolium*. Dari 54 isolat bakteri asosiasi lamun yang berhasil diisolasi ditemukan bentuk morfologi bakteri yaitu *comma*, *bacill*, *spiral* dan *coccus*, semua isolat berGram negatif dan didominasi morfologi sel yang berbentuk batang.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dari 54 isolat bakteri asosiasi lamun yang diuji aktivitas antibakterinya, terdapat tiga isolat bakteri yang ekstraknya mempunyai kemampuan untuk menghambat bakteri uji *S. aureus* yaitu lamun dari *E. acoroides*. Ketiga isolat bakteri yang ekstraknya mempunyai aktivitas antibakteri tersebut adalah isolat dengan kode EA7, EA11 dan EA12.

Kata kunci: Bakteri asosiasi, Antibakteri, Lamun, Pulau Bonebatang

**POTENSI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASOSIASI LAMUN
(SEAGRASS) DARI PULAU BONEBATANG PERAIRAN
KOTA MAKASSAR**



Oleh:

EKA LISDAYANTI

L111 09 262

***Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana pada Program Studi Ilmu Kelautan
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan
Universitas Hasanuddin***

**JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Potensi Antibakteri dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar.

Nama Mahasiswa : Eka Lisdayanti

Nomor Pokok : L111 09 262

Program Studi : Ilmu Kelautan

Jurusan : Ilmu Kelautan

Skripsi Telah Diperiksa
dan Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si

NIP : 19651209 199202 1 001

Dr. Ir. Arniati, M.Si

NIP : 19660614 199103 2 002

Mengetahui :

Dekan,

Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan

Ketua,

Program Studi Ilmu Kelautan

Prof. Dr. Ir. Andi Niartiningih, MP

NIP : 19611201 198703 2 000

Dr. Ir. Amir Hamzar Muhiddin, M.Si

NIP : 19631120 199303 1 002

Tanggal lulus : Maret 2013

RIWAYAT HIDUP



Eka Lisdayanti dilahirkan pada tanggal 31 Maret 1991 di Ujung pandang, Sulawesi Selatan. Anak pertama dari 5 orang bersaudara dari Ayahanda Drs. Muslimin, AP dan Ibunda Hamira Harna.

Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SDN 405 siwa tahun 2003, pendidikan lanjutan di SLTP Neg. 1 Pitumpanua tahun 2006 dan di SMUN 1 Pitumpanua tahun 2009.

Melalui Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru (SPMB) pada tahun 2009, penulis diterima di Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

Keinginan penulis semasa mahasiswa untuk memperoleh wawasan dan pola pikir didapatkan melalui interaksi dengan sesama rekan mahasiswa, yang mengantarkan penulis untuk turut berpartisipasi dalam berbagai kegiatan Keluarga Mahasiswa Ilmu Kelautan UNHAS.

Penulis menyelesaikan rangkaian tugas akhir, masing-masing mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kec. Sajoanging Kab. Wajo tahun 2012 dan Praktek Kerja Lapang (PKL) yang dilaksanakan di Desa Barangmamase Kec. Sajoanging Kab. Wajo tahun 2012. Sebagai tugas akhir, penulis melakukan penelitian dengan judul **Potensi Antibakteri dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar** dibawah bimbingan Bapak Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si dan Ibu Dr. Ir. Arniati, M.Si

KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah, segala puji penulis panjatkan kehadiran **Allah SWT**, atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi dengan judul **Potensi Antibakteri dari bakteri Aosiasi Lamun (Seagrass) dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar** dapat diselesaikan.

Skripsi ini disusun berdasarkan data-data hasil penelitian sebagai tugas akhir untuk memperoleh gelar sarjana dari Program Studi Ilmu Kelautan Universitas Hasanuddin.

Dengan adanya penelitian ini, penulis berharap apa yang dilakukan dapat bermanfaat dan membawa kepada suatu kebaikan. Oleh karenanya, kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan.

Akhirnya kepada semua pihak yang tak sempat disebutkan namanya satu demi satu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih dengan tumpuan harapan semoga Allah SWT membalas segala budi baik para pihak yang telah membantu penulis dan kesemuanya menjadi pahala ibadah, Amin.

Wassalam.

Makassar, Maret 2013

PENULIS

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya penulisan skripsi ini, perkenankanlah penulis pada kesempatan ini menyampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak, yakni terurai sebagai berikut:

1. Para pembimbing penulis, **Bapak Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si** (Pembimbing Utama), Ibu **Dr. Ir. Arniati, M.Si** (Pembimbing Anggota), serta para penguji, Bapak **Dr. Ir. Khairul Amri, ST, M.Sc. Stud**, Bapak **Dr. Muhammad Lukman, ST, M. Mar.Sc**, Bapak **Dr. Mahatma, ST, M.Sc**, Ibu **Dr. Ir. Rohani . AR, M.Si** yang telah banyak memberikan masukan, bimbingan dan mengarahkan, serta memberi petunjuk-petunjuk yang sangat berguna dari tahap awal sampai kepada tahap akhir penulisan skripsi ini.
2. Ibu **Prof. Dr. Ir. Andi Niartiningasih, MP** sebagai Dekan FIKP-UH, Bapak **Dr. Ir. Amir Hamzah Muhiddin, M.Si** sebagai Ketua Jurusan Ilmu Kelautan FIKP-UH.
3. Ibu **Dr. Nurjannah, ST, M.Si** sebagai penasehat akademik yang selalu memberikan semangat dan saran-saran yang membangun bagi penulis.
4. Seluruh staf dosen pengajar pada Jurusan Ilmu Kelautan Universitas Hasanuddin yang tidak sempat disebutkan namanya satu demi satu, yang telah membekali ilmu kepada penulis sejak awal terdaftarnya sebagai mahasiswa hingga akhir penyelesaian studi ini.
5. Seluruh staf Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin yang telah membantu kelancaran dan kemudahan penulis, sejak mengikuti perkuliahan, proses belajar sampai akhir penyelesaian studi ini.
6. Ucapan khusus dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua penulis tercinta, Ayahanda Drs. Muslimin AP dan Ibunda tercinta

Hamira Harna, yang telah melahirkan, membesarkan dan mendidik penulis dalam menimba ilmu pengetahuan sampai kepada penyelesaian studi di Jurusan Ilmu Kelautan Universitas Hasanuddin, demikian pula kepada saudara(i)ku **Adrian roy, Alfian, Annisa rahmadani dan Asyika tanisa** yang telah banyak membantu, mendorong dan memberi semangat, terutama di akhir penyelesaian studi penulis.

7. Kepada sahabat istimewa Nurmalasari, Nur Amni, Noviana Hamja, Harina Ridwan, Nur Azisah Aliardani, Takaruddin yang telah menyemangati dan selalu hadir dalam suka duka penulis.
8. Kepada seluruh rekan mahasiswa Ilmu Kelautan Universitas Hasanuddin, khususnya "KOSLET" (**Kla'09**) kawan dan saudara seperjuangan, yang tidak sempat disebutkan namanya satu demi satu, kesemuanya penulis ucapkan terima kasih atas segala toleransi yang tinggi dan kerjasamanya selama ini.
9. Untuk Nurfadilah (iLo), Azmi Utami Putri (Cupit), Nurzahraeni (Nur), Musdalifah (Oneng), Nur Tri Handayani (Tri), Nur Hikmah (Imma), Hasanah (Jo), Steven (Mas bero), Jumniati (jumjum), Suci Rahmadani Artika (Uci'), Satria (kk Sate'), Abdi Wunanto Hasan (kk Abdi), kak Arham, Kak ishak kawan dan kakak penyemangat semasa perkuliahan dan penelitian berlangsung.
10. Seluruh mahasiswa Ilmu Kelautan, penulis banyak belajar tentang rasa persaudaraan, susah, senang, canda dan tawa di Koridor Ilmu Kelautan bersama kalian.

Terakhir kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik moril maupun materil yang tidak sempat disebutkan namanya.

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	3
C. Ruang Lingkup Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bioekologi Lamun	5
1. Morfologi dan anatomi	5
2. Habitat	5
B. Bakteri Laut	6
1. Bakteri	6
2. Morfologi bakteri	7
C. Karakteristik dan Habitat Bakteri Laut	9
a) Suhu	10
b) Tekanan hidrostatik	10
c) Salinitas	11
d) pH	11
e) Nitrat dan fosfat	11
f) Bahan organik total	12
D. Bakteri Asosiasi Tumbuhan	13
E. Senyawa Bioaktif Bakteri Asosiasi	14
F. Uji Antibakteri	14
1. Antibakteri	14
2. Pengujian aktivitas antibakteri	15
a) <i>Staphylococcus aureus</i>	16

b) <i>Escherichia coli</i>	17
III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat	19
B. Alat dan Bahan	19
C. Prosedur Penelitian	20
1. Pengambilan dan identifikasi sampel lamun	20
2. Pembuatan medium untuk isolasi bakteri	21
a) Nutrien Agr (NA)	21
b) Nutrien broth (NB)	22
3. Isolasi bakteri	22
4. Uji aktivitas Antibakteri	24
a) Ekstraksi senyawa antibakteri	24
b) Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.....	25
E. Analisis Data	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Isolat Bakteri Asosiasi Lamun dari Pulau Bonebatang	27
B. Uji Antibakteri Ekstrak Isolat Bakteri Asosiasi Lamun	33
V. PENUTUP	
A. Simpulan	40
B. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1.	Morfologi koloni dan sel isolat bakteri lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang .. 30
2.	Zona hambat ekstrak bakteri asosiasi lamun dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar..... 34
3.	Parameter-parameter kualitas lingkungan perairan Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar..... 37
4.	Uji one-way Anova aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi lamun yang berasal dari P. Bonebatang ($\alpha = 0,05$) 38

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Bentuk sel bakteri	7
2. Bentuk-bentuk koloni bakteri	8
3. Bakteri (a) Gram positif dan (b) Gram negatif.....	8
4. Peta lokasi pengambilan sampel lamun di Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar.....	19
5. Preparasi sampel lamun di lapangan.....	21
6. Pengenceran Lamun.....	23
7. Skema tahapan kerja isolasi bakteri dari lamun (<i>Seagrass</i>)	24
8. Pemisahan sel bakteri dan supernatan menggunakan sentrifuse.....	25
9. Bagan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.....	26
10. Jumlah isolat bakteri asosiasi berdasarkan jenis lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang	27
11. Diameter zona hambat bakteri pada tiap jenis lamun.....	38

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pulau Bonebatang merupakan bagian dari Kepulauan Spermonde secara administratif berada dalam wilayah Kota Makassar. Pulau Bonebatang memiliki kondisi tutupan lamun yang termasuk dalam kondisi bagus dengan presentase tutupan berkisar antara 50,5 – 75,4 % dengan 6 jenis lamun yaitu *Thalassia hemprichii*, *Enhalus acoroides*, *Halodule uninervis*, *Halophila ovalis*, *Syringodium isoetifolium* dan *Cymodocea rotundata* (Antariksa, 2011).

Lamun merupakan tumbuhan berbunga (Angiospermae) hidup dan berkembang baik pada lingkungan perairan laut dangkal, estuaria dengan kadar garam tinggi, daerah yang selalu mendapat genangan air laut ataupun terbuka saat air surut. Pada umumnya ditemukan pada substrat pasir, pasir berlumpur, lumpur lunak dan pecahan karang. Lamun berperan penting dalam siklus ekologi pada perairan dangkal pantai tropis dan subtropis (Kurniawan, 2010). Fungsi ekologi lamun diantaranya adalah sebagai daerah asuhan, daerah pemijahan, daerah mencari makan dan daerah untuk mencari perlindungan berbagai jenis biota laut (Philips, 1988; Thomascik *et al.*, 1997).

Beberapa mikroorganisme bersimbiosis dengan lamun termasuk bakteri. Bakteri yang bersimbiosis dengan lamun ada beberapa yang menguntungkan, yaitu bakteri yang dapat memberikan kontribusi untuk pertahanan inangnya dengan eksresi antibiotik dan substansi bioaktif lainnya. Organisme laut yang hidupnya menetap diperkirakan sangat bergantung pada mekanisme pertahanan kimia untuk melawan hewan-hewan pemangsa dan perlekatan dari mikroorganisme patogenik, seperti yang dilaporkan Watermann (1999) bahwa terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang diduga juga mensintesa metabolit sekunder. Selanjutnya dikatakan bahwa mikroba yang

diisolasi dari tumbuhan yang menghasilkan bahan bioaktif telah diketahui memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Salah satu potensi bakteri tersebut adalah sebagai sumber antibakteri patogen (antimikroba patogen).

Penelitian bakteri pada lingkungan laut telah banyak dilakukan seperti isolasi dan identifikasi mikroba simbiosis sponge *Axinella* sp. (Abdullah, 2006). Muliani *et al.* (2003) mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu dan penelitian tentang bakteri asosiasi karang batu yang terinfeksi penyakit tumor (Massinai, 2012). Untuk penelitian bakteri simbiosis dengan lamun telah dilakukan sebelumnya namun pada umumnya isolat bakteri berasal dari beberapa jenis lamun, hal ini dilakukan oleh Ravikumar *et al.* (2010) hasil yang didapatkan yaitu mengenai potensi bioaktif dari bakteri lamun sebagai antibakteri dari bakteri patogen manusia yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari jenis lamun *Cymodocea serrulata* yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Streptococcus aeruginosa*, sedangkan Shofiatul (2011) melaporkan bahwa dari sembilan isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Enhalus* sp satu diantaranya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Enterobacter* sp. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada luka bernanah terutama dalam selaput hidung, folikel rambut, kulit dan perinum (Jawetz *et al.*, 1996). Bakteri ini dapat menyebabkan pembengkakan bernanah pada gusi (Pelczar dan Chan, 1988), menyebabkan intoksikasi dan infeksi seperti bisul, pneumonia, mastitis pada hewan dan manusia (Fardiaz, 1983) dan memproduksi enterotoksin penyebab keracunan yang bersifat tahan panas dan masih aktif setelah dipanasi pada suhu 100°C selama 30 menit (Fardiaz, 1989). Selain *Staphylococcus aureus* bakteri yang umum didapatkan di lingkungan laut yang

bersifat patogen terhadap manusia adalah *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* pada umumnya hidup secara normal pada alat pencernaan, akan tetapi *E. coli* juga dapat bersifat oportunistis dengan menyebabkan penyakit pada manusia apabila jumlah *E. coli* terlalu banyak (Lyles, 1969). Selanjutnya menurut Pelczar *et al.* (1988) mengemukakan bahwa walaupun *E. coli* merupakan bagian dari mikroba normal saluran pencernaan, tapi saat ini telah terbukti bahwa galur-galur tertentu mampu menyebabkan gastroenteritis taraf sedang hingga parah pada manusia dan hewan. Gangguan yang diakibatkan oleh bakteri *E. coli* adalah penyakit diare.

Penelitian mengenai potensi antibakteri asosiasi dari beberapa jenis lamun masih kurang dilakukan, khususnya di Kepulauan Spermonde. Isolasi bakteri asosiasi dari berbagai jenis lamun dan pengujian potensi antibakteri simbiosis tersebut belum pernah dilakukan.

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang potensi antibakteri dari bakteri asosiasi lamun (*Seagrass*) di Pulau Bonebatang, Perairan Kota Makassar untuk menghambat bakteri patogen, khususnya bakteri patogen pada manusia, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

B. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu

1. Mengetahui morfologi koloni dan sel bakteri yang berasosiasi dengan lamun
2. Mengetahui potensi antibakteri dari bakteri asosiasi lamun terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

sedangkan kegunaannya adalah sebagai informasi untuk bahan baku antimikroba dan sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya tentang identifikasi bakteri asosiasi yang berpotensi sebagai antibakteri.

C. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini yaitu isolasi bakteri yang berasosiasi dengan daun lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang Kota Makassar, Mengamati potensi bakteri asosiasi lamun untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Gram positif) dan *E. coli* (Gram negatif).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bioekologi Lamun

1. Morfologi dan Anatomi

Lamun adalah tumbuhan berbunga (Angiospermae) akuatik yang hidup di lingkungan laut bersalinitas tinggi (Romimohtarto dan Juwana, 1999; den Hartog dan Kuo, 2006). Tumbuhan ini terdiri dari rhizoma, daun dan akar. Rhizoma merupakan batang yang terbenam dan merayap secara mendatar, serta berbuku-buku (*nodes*). Pada buku-buku tersebut tumbuh batang pendek (*stem*) yang tegak ke atas, berdaun dan berbunga. Pada buku (*node*) tumbuh pula akar (*root*). Melalui rhizoma dan akar inilah tumbuhan ini dapat menancapkan diri dengan kokoh di dasar laut sehingga tahan terhadap hempasan gelombang dan arus (Nontji, 1987). Lamun tumbuh pada substrat berpasir atau berlumpur. Distribusinya tergantung pada temperatur, keterbukaan terhadap aksi gelombang dan yang paling penting adalah ketersediaan cahaya (Kirkman, 1997).

2. Habitat

Lamun hidup dan terdapat pada daerah mid-intertidal sampai kedalaman 0,5-10 m dan sangat melimpah di daerah sublitoral. Jumlah spesies lebih banyak terdapat di daerah tropik dari pada di daerah ughari (Barber, 1985). Habitat lamun dapat dilihat sebagai suatu komunitas, dalam hal ini padang lamun merupakan kerangka struktur dengan tumbuhan dan hewan yang saling berhubungan. Habitat lamun dapat juga dilihat sebagai suatu ekosistem, dalam hal ini hubungan hewan dan tumbuhan dilihat sebagai suatu proses yang dikendalikan oleh pengaruh-pengaruh interaktif dari faktor-faktor biologis, fisik dan kimiawi. Ekosistem padang lamun pada daerah tropik dapat menempati berbagai habitat, dalam hal ini nutrien yang diperlukan sangat berpengaruh.

Lamun dapat hidup mulai dari rendah nutrien dan melimpah pada habitat yang tinggi nutrien.

Lamun pada umumnya merupakan kelompok tumbuhan yang homogen. Lamun mempunyai kaitan dengan habitat, Sangaji (1994) mendapatkan *Enhalus acoroides*, dominan hidup pada substrat dasar berpasir dan pasir sedikit berlumpur dan kadang-kadang terdapat pada dasar yang atas campuran pecahan karang yang telah mati.

B. Bakteri Laut

1. Bakteri

Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air dan tanah. Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal tidak terlihat oleh mata, berukuran antara 0,5 – 1,0 μm dan lebar 0,5 – 2,5 μm tergantung pada jenisnya. Terdapat beribu jenis bakteri, tapi hanya beberapa jenis bakteri yang ditemukan, diantaranya berbentuk bulat, batang, spiral, koma atau vibrios (Buckle *et al.*, 1987).

Sel bakteri terdiri dari membran dan sitoplasma. Sel dibungkus oleh dinding sel, pada beberapa jenis bakteri dinding sel dikelilingi oleh kapsula atau lapisan lendir. Kapsul berisi campuran polisakarida dan polipeptida. Bakteri memperbanyak diri dengan cara pembelahan secara biner. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi faktor lingkungan seperti, suhu atau temperatur, O_2 , CO_2 , pH, nutrient dan cahaya (Suendra, 1991). Bakteri memiliki flagella yang tumbuh dalam membran sel, berupa struktur yang menyerupai benang panjang, berbentuk seperti cambuk. Flagella ini merupakan alat gerak bakteri yang bergerak dengan cara mendorong bakteri dalam cairan, misalnya air (Gaman dan Sherington, 1994).

Berdasarkan komposisi selnya, bakteri dibedakan atas Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan gram merupakan salah satu teknik penting dalam membedakan kedua gram tersebut. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang dijadikan bioindikator adalah dua spesies bakteri yang berbeda Gramnya.

2. Morfologi Bakteri

Pada umumnya ukuran tubuh bakteri sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri baru dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri adalah sel prokariot yang khas, bersifat uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel bakteri ada yang berbentuk bulat, batang atau spiral (Gambar 1). Umumnya bakteri memiliki diameter antara 0,5-2,5 μm (Pelczar dan Chan, 1986). Bakteri adalah yang paling berkelebihan dari semua organisme. Bakteri tersebar (berada dimana-mana) di tanah, air dan sebagai simbiosis dari organisme lain.

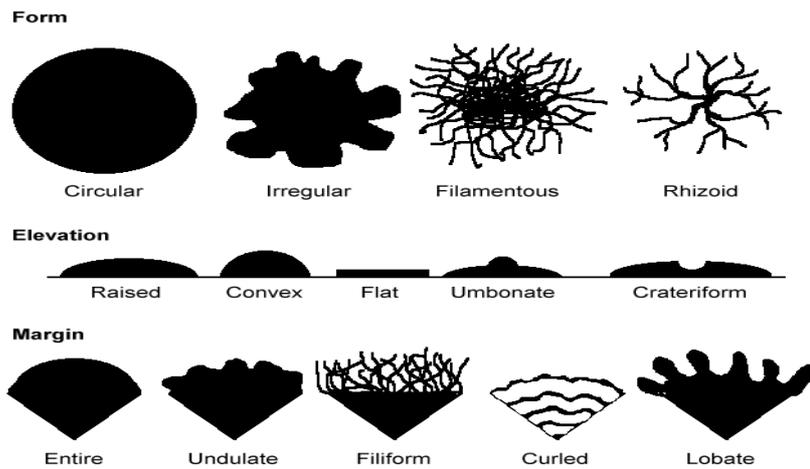


Gambar 1. Bentuk sel bakteri (a) Basil, (b) Kokus, (c) Spiral
(Sumber: Kayser, 2005)

Kebanyakan bakteri berukuran kecil, biasanya hanya berukuran 0,5-5 μm . Umumnya bakteri memiliki dinding sel, seperti sel hewan dan jamur, tetapi dengan komposisi yang sangat berbeda. Banyak bakteri yang bergerak menggunakan *flagella*, yang berbeda dalam strukturnya dari *flagella* kelompok lain (Pelczar dan Chan, 1986).

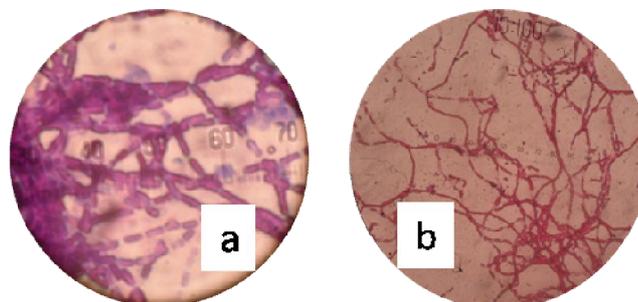
Bakteri dapat ditumbuhkan dalam suatu medium agar dan akan membentuk penampakan berupa koloni. Koloni sel bakteri merupakan sekelompok massa

sel yang dapat dilihat dengan mata langsung. Penampakan koloni bakteri dalam media lempeng agar menunjukkan bentuk dan ukuran koloni yang khas, dapat dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi dan permukaan koloni. Koloni bakteri dapat berbentuk bulat, tak beraturan dengan permukaan cembung, cekung atau datar serta tepi koloni rata atau bergelombang (Gambar 2) .



Gambar 2. Bentuk-bentuk koloni bakteri (Sumber : Cappucino, 1987)

Bakteri secara umum dibedakan menjadi dua bagian berdasarkan sifat pewarnaan Gram yaitu Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang memberi respon berwarna biru keunguan jika dilakukan uji pewarnaan Gram, sedangkan Gram negatif memberikan respon warna merah jika dilakukan uji pewarnaan Gram (Gambar 3) (Tortora dan Derrickson, 2006).



Gambar 3. Bakteri (a) Gram positif dan (b) Gram negatif

C. Karakteristik dan Habitat Bakteri Laut

Karakteristik bakteri laut ialah untuk pertumbuhannya memerlukan air laut atau kadar garam, sehingga bakteri laut digolongkan ke dalam kelompok bakteri halofilik (NaCl). Berdasarkan toleransi kadar garamnya, menurut Ogenski dan Umbreit (1959) bakteri laut hanya dibagi dua yaitu bakteri halofilik moderat yaitu bakteri yang untuk pertumbuhannya memerlukan 1% hingga 20% NaCl sedangkan bakteri halofilik ekstrim yaitu bakteri yang memerlukan konsentrasi NaCl lebih dari 15% hingga 31%.

Bakteri laut 95% adalah Gram negatif, sebagian aktif bergerak, 70% mengandung pigmen dan mempunyai toleransi yang besar terhadap suhu tetapi sensitif terhadap suhu tinggi (Pelczar dan Chan, 1986). Mampu hidup dalam tekanan hidrostatis yang ekstrim di laut yang sangat dalam (*palung/trench*).

Berdasarkan taksonominya bakteri dimasukkan ke dalam kategori prokaryota oleh karena selnya tidak mempunyai kompartemen nukleus (inti sel). Sedangkan sel yang mempunyai kompartemen nukleus disebut eukariota, yaitu biota tingkat tinggi yang sudah mempunyai susunan jaringan tubuh yang lengkap. Prokaryota dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu eubakteria dan archaeobakteria. Eubakteria adalah bakteri yang sudah dikenal secara umum. Sedangkan yang termasuk kelompok archaeobakteria adalah bakteri penghasil metan, bakteri yang ekstrim halofil (kadar garam) dan ekstrim termofili (suhu). Bakteri ekstrim halofil adalah bakteri yang hidup pada *saturated brine* (kadar garam yang sangat tinggi) dan ekstrim termofil adalah kelompok bakteri yang hidup pada suhu lebih besar dari 80°C (Fenchel, 2001).

Bakteri laut memiliki kecenderungan untuk berasosiasi dengan suatu lapisan permukaan padat. Penyebaran bakteri di laut dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti gerakan air laut, jarak dari pantai, kedalaman, cahaya matahari, iklim dan organisme lain (Sidharta, 2000). Bakteri laut, seperti halnya makhluk hidup

lainnya, sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor abiotik (fisik dan kimia) lingkungan sekitarnya. Faktor-faktor abiotik tersebut adalah sebagai berikut:

a) Suhu

Semua proses pertumbuhan bakteri bergantung pada reaksi kimiawi dimana adanya laju reaksi yang dipengaruhi oleh suhu. Keragaman suhu dapat mengubah proses metabolisme tertentu selain morfologi dari sel bakteri (Pelczar dan Chan, 1988).

Setiap spesies bakteri tumbuh pada kisaran suhu tertentu. Bakteri *psikrofil* mampu tumbuh pada suhu minimum 0-5°C, optimum 5-15°C, dan maksimum 15-20°C. Bakteri *mesofil* dapat tumbuh pada suhu minimum 10-20°C, optimum 20-40°C dan maksimum 40-45°C. Bakteri yang dapat tumbuh pada suhu minimum 25-45°C, optimum 45-60°C dan maksimum 60-80°C disebut dengan bakteri *termofil* (Lay, 1994).

Menurut Wood (1953) bakteri laut pada 37°C akan terbunuh sebanyak 42%, sedang pada suhu 45°C hanya tinggal 15% sel yang bertahan hidup. Menghangatkan sesaat ketika melakukan inokulasi pada suhu 30-40°C tidak menyebabkan terbunuhnya bakteri, karena sebagian besar bakteri baru akan terbunuh bila berada pada kisaran suhu tersebut selama lebih dari 10 menit (Zobell dan Conn, 1940).

b) Tekanan Hidrostatik

Tekanan hidrostatik mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Umumnya tekanan 1-400 atm tidak mempengaruhi atau hanya sedikit mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Tekanan hidrostatik yang lebih tinggi lagi dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan, oleh karena tekanan hidrostatik tinggi dapat menghambat sintesis RNA, DNA dan

protein, serta mengganggu fungsi transport membran sel maupun mengurangi aktivitas berbagai macam enzim (Dewangga, 2011).

c) Salinitas

Konsentrasi seluruh bahan padat terlarut dalam air laut disebut sebagai salinitas, dengan satuan *part per thousand* (ppt, bagian per seribu) atau *per mille* (‰) atau gram bahan padat per kilogram air laut. Tingkat salinitas merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kehidupan serta pertumbuhan mikroorganisme di perairan. Sebaran salinitas di laut dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pola sirkulasi air, penguapan, curah hujan dan aliran air sungai. Salinitas permukaan air laut sangat erat kaitannya dengan proses penguapan dimana garam-garam akan mengendap atau terkonsentrasi (Nontji, 1987). Aksornkoe (1993) menyatakan bahwa salinitas merupakan lingkungan yang sangat menentukan perkembangan organisme. Beberapa garam sangat efektif mempengaruhi suhu pertumbuhan bakteri yaitu NaCl, LiCl, MgCl₂, KCl₂, RbCl (Ljunger, 1962).

d) pH

Sebagian besar bakteri memiliki nilai pH minimum dan maksimum antara 4 dan 9 dalam pertumbuhannya. Pada umumnya pH optimum pertumbuhan bakteri terletak antara 6,5 dan 7,5. Namun, beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan asam atau basa (Pelczar dan Chan, 1988).

e) Nitrat dan Fosfat

Nitrat (NO₃) adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami. Nitrat sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Senyawa ini dihasilkan dari proses oksidasi sempurna senyawa nitrogen di perairan. Nitrifikasi yang merupakan proses yang penting dalam siklus nitrogen. Nitrat dapat digunakan untuk

mengelompokkan tingkat kesuburan perairan. Senyawa ini merupakan salah satu senyawa yang berfungsi dalam merangsang pertumbuhan biomassa laut, sehingga secara langsung dapat mengontrol perkembangan produksi primer. Oleh sebab itu, konsentrasi nitrat yang berlimpah dalam air laut berhubungan erat dengan kesuburan suatu perairan.

Fosfat merupakan salah satu unsur esensial bagi metabolisme dan pembentukan protein, fosfat yang diserap oleh jasad hidup nabati perairan. Sumber utama fosfat terlarut dalam perairan adalah hasil pelapukan, mineral yang mengandung fosfor serta bahan organik seperti hancuran tumbuhan-tumbuhan. Fosfat yang terdapat dalam air laut berasal dari hasil dekomposisi organisme, run-off dari daratan (erosi tanah), hancuran dari bahan-bahan organik dan mineral fosfat serta masukan limbah domestik yang mengandung fosfat. Kematian biota, lamun dan mikroorganisme lainnya memberikan masukan kuantitas nutrisi dimana fosfor organik dalam jaringannya secara cepat berubah menjadi fosfat melalui fosfatase (Chaniago, 1994). Selain itu, fosfor merupakan unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri serta dapat mendorong kemampuan bakteri untuk membentuk vitamin yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan (Brockman *et al.*, 1989).

f) Bahan Organik Total

Bahan organik total atau *total organic matter* (TOM) menggambarkan jumlah bahan organik suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, bahan organik tersuspensi dan koloid. Tingginya kadar BOT akan meningkatkan pertumbuhan mikroba (Kline *et al.*, 2006). Bahan organik total mengandung karbon, nitrat, fosfat, amonia, dan beberapa mineral yang merupakan nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba (Sidharta, 2000).

D. Bakteri Asosiasi Tumbuhan

Tumbuhan secara alami berhubungan dengan berbagai macam bakteri. Asosiasi tumbuhan dan bakteri membentuk koloni pada (rizobakteri), filosfir (epifit) dan di dalam jaringan tumbuhan (endofit). Endofit terdapat di dalam jaringan tumbuhan sehingga terlindung dari cekaman lingkungan dan kompetisi mikroba dari tumbuhan inang (Mano, 2007).

Tumbuhan tingkat tinggi dan rendah memiliki bakteri endofit yang bisa ditemukan intraseluler (Hung dan Annapurna, 2004). Bakteri endofit dapat membantu dalam pertumbuhan tanaman seperti memproduksi fitohormon, meningkatkan resistensi terhadap patogen dan parasit, membantu fiksasi nitrogen dan produksi antibiotik (Feng *et al.*, 2006).

Bakteri asosiasi mikroba juga memberikan kontribusi dalam siklus nutrisi bagi kebutuhan inangnya. Senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh mikroba simbiosis potensial digunakan sebagai prekursor untuk metabolisme biosintesis pertahanan dari patogen dan predator lainnya. *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospira*, *Planctomycetes*, *Poribacteria*, *Proteobacteria*, *Sphirochaetes* dan *Verrucomicrobia* merupakan bakteri yang berasosiasi dengan spons (Taylor *et al.*, 2007).

Endofit memiliki bermacam-macam produk senyawa antimikroba yang merupakan potensi penting dari sumber senyawa antimikroba (Ryan *et al.*, 2007). Sebagian besar dari anggota endofit adalah *Streptomyces* (Ghadin *et al.*, 2003) dan Eubacteria lainnya (Miller *et al.*, 1988) telah diisolasi dan memiliki aktivitas antibakteri atau antijamur.

Marhaeni (2011) dalam penelitiannya mengenai potensi bakteri simbiosis tumbuhan lamun sebagai penghambat terjadinya biofouling di laut, mendapatkan beberapa bakteri simbiosis lamun yang merupakan bakteri epifit seperti *Bacillus*

vietnamensis, *Virgibacillus marismortui*, *Virgibacillus proomii*, *Halobacillus trueperi*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus luciferensis*, sedangkan hasil identifikasi dari bakteri endofit adalah *Pseudoalteromonas flavipulchra*, *Halobacillus litoralis*, *Vibrio campbellii*, *Bacillus flexus*, *Bacillus carboniphilus*.

E. Senyawa Bioaktif Bakteri Asosiasi

Lamun merupakan salah satu tumbuhan laut yang kaya akan senyawa bioaktif. Terdapatnya asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang juga mensintesis metabolit sekunder seperti organisme inangnya merupakan potensi besar sumber alternatif eksplorasi baru (Radjasa *et al*, 2009).

Senyawa bioaktif laut atau produk alami laut (*Marine Natural Products* (MNPs) adalah senyawa organik yang diproduksi oleh mikroba, spons, seaweeds dan organisme laut lain. Organisme inang mensintesis senyawa ini sebagai metabolit sekunder untuk melindungi dirinya dan menjaga keseimbangan lingkungan kaitannya dalam pertahanan diri terhadap predator.

F. Uji Antibakteri

1. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri. Antibakteri dalam defenisi yang luas adalah suatu zat yang mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Antibiotik maupun antibakteri sama-sama menyerang bakteri. Antibakteri biasanya dijabarkan sebagai suatu zat yang digunakan untuk membersihkan permukaan dan menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan (Volk dan Wheeler, 1993).

Antibakteri adalah jenis bahan tambahan yang digunakan dengan tujuan untuk mencegah kebusukan atau keracunan oleh mikroorganisme pada bahan

pangan. Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah sodium benzoat, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sulfur dioksida dan sulfit, nitri, senyawa kolagen dan surfaktan, dimetil karbonat dan metil askorbat. Antibakteri alami baik dari produk hewani, tanaman maupun mikroorganisme misalnya bakteriosin (Luthana, 2008).

Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteri statik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya : 1) konsentrasi zat pengawet, 2) jenis, umur dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu dan 5) sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya (Luthana, 2008).

2. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996). Senyawa antibakteri dapat bersifat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri atau disebut bakterisidal (Ganiswara, 1995).

Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik bervariasi. Bakteri Gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri Gram negatif, meskipun beberapa antibiotik dapat bereaksi atau mempengaruhi hanya pada bakteri Gram negatif, tetapi tidak menutup kemungkinan bakteri Gram negatif lebih peka dibanding dengan bakteri Gram positif pada beberapa antibiotik tertentu. Zat antibiotik yang dapat bereaksi dengan bakteri Gram positif dan Gram negatif disebut dengan antibiotik *Broad Spectrum* atau antibiotik berspektrum luas (Brock *et al.*, 1994).

Uji antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri. Menurut Brock dan Madigan (1994) terdapat tiga metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri, yaitu metode dilusi kaldu, metode dilusi agar dan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Bakteri yang sering diujikan adalah bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Karakteristik dan habitat bakteri uji adalah sebagai berikut :

a) *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk menggerombol yang tidak teratur. *Staphylococcus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba (Jawetz *et al.*, 2001).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Brooks (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryota

Divisio : Firmicutes

Kelas : Bacili

Ordo : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 - 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengikat (Jawetz *et al.*, 2001).

Pada manusia, bakteri ini dapat ditemukan pada kulit, hidung dan rambut. Selain itu, juga terdapat pada berbagai jenis makanan. Bakteri ini bersifat patogen dan toksik. Dinding selnya mengandung fosfor organik, ribitol, glukosamin, asam muramat, glisina, lisina dan sedikit threonina, prolina, valina dan leusina (Murni, 1998).

b) *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, bakteri ini merupakan flora normal yang terdapat dalam usus dan merupakan kelompok besar yang berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan habitat alaminya adalah saluran usus manusia dan hewan. Morfologinya berupa koloni yang bundar, cembung dan tipis (Jawetz *et al.*, 2001).

Organisme ini tersebar luas di alam biasanya lazim terdapat dalam sel pencernaan manusia dan hewan. Dalam Merchant dan Parker (1961) disebutkan spesies *E. coli* tidak dapat mengurangi asam sitrat dan garam asam sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan tidak menghasilkan pigmen, tetapi kadang-kadang menghasilkan pigmen berwarna kuning.

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Brooks (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryota

Divisio : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Eubacteriales

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

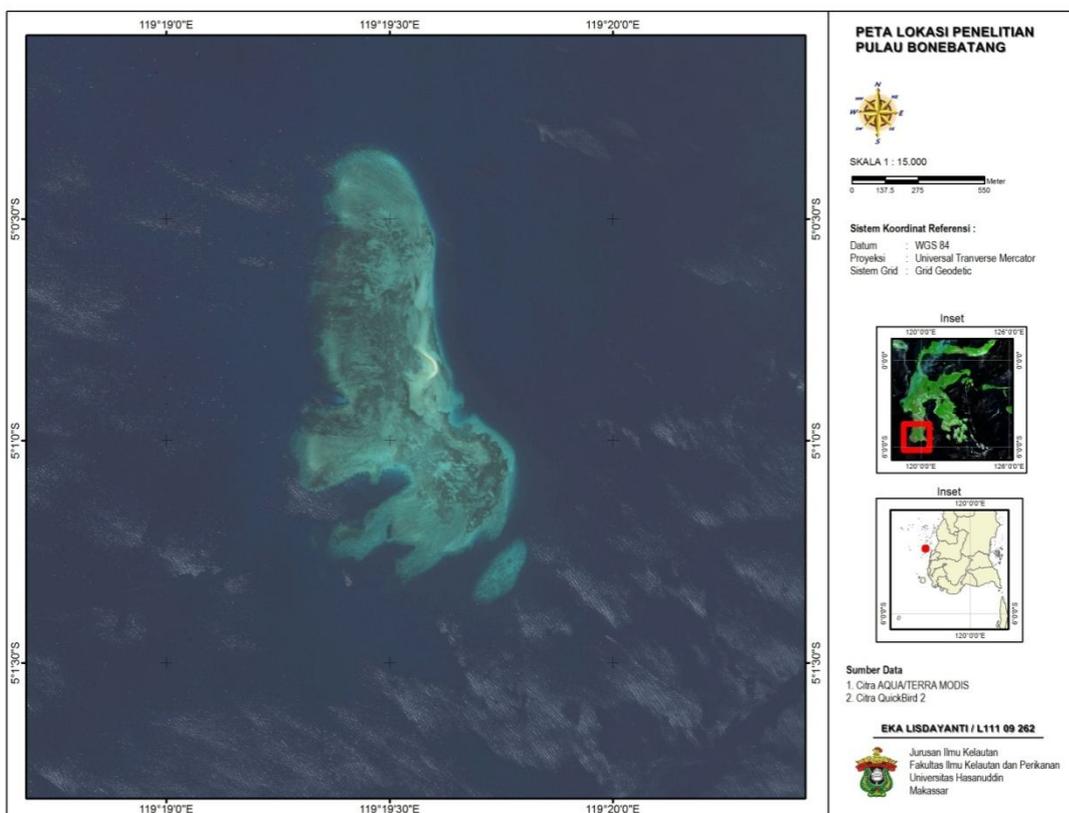
Escherichia coli tersebar di seluruh dunia dan ditularkan bersama air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses. *Escherichia coli* berbentuk batang, tebal 0,5 μm , panjang antara 1,0 – 3,0 μm , bervariasi dari bentuk koloid sampai berbentuk seperti filamen yang panjang, tidak berbentuk spora, bersifat Gram negatif. *Escherichia coli* aerob atau kualitatif anaerob, dapat tumbuh pada media buatan. Beberapa sifat *Escherichia coli* antara lain pertumbuhan optimum pada suhu 37°C, dapat tumbuh pada suhu 15°C - 45°C, tumbuh baik pada pH 7,0 tapi tumbuh juga pada pH yang lebih tinggi (Merchant dan Parker, 1961).

Escherichia coli umumnya menyebabkan diare yang terjadi di seluruh dunia. Pelekatan pada sel epitel usus kecil atau usus besar sifatnya dipengaruhi oleh gen dalam plasmid. Sama halnya dengan toksin yang merupakan plasmid atau *phage mediated* (Brooks, 2001).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2012 – Februari 2013. Pengambilan sampel bakteri asosiasi lamun dilakukan di Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar (Gambar 4). Isolasi bakteri, ekstraksi dan pengujian difusi agar dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut dan Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.



Gambar 4. Peta lokasi pengambilan sampel lamun di Pulau Bonebatang, Perairan Kota Makassar.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada saat pengambilan sampel lamun di lapangan yaitu alat dasar untuk snorkling, kamera underwater, GPS, sabak, *cool box*, gunting/pisau dan kantong sampel, sedangkan alat-alat yang digunakan di

laboratorium adalah autoklaf, inkubator, *laminar air flow*, shaker inkubator, lemari pendingin, *hot plate with magnetic stirrer*, mikropipet, mikroskop, oven, vortex, timbangan analitik, waterbath, cawan petri, labu erlenmeyer, gelas piala, tabung reaksi, kaca objek, pipet, bunsen, jarum ose, penggaris.

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel dari beberapa jenis lamun yang diambil Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar, larutan fisiologis NaCl 0,9%, akuades, kristal violet, lugol-iodium, etanol 96%, safranin, alkohol, spiritus, minyak imersi, aluminium foil, tissue, kertas label dan kapas, paper disk, isolat bakteri lamun, biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. Coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, media nutrient agar (NA), media nutrient broth (NB), kloramfenikol (30 ppm).

C. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel Lamun

Pengamatan lamun dilakukan menggunakan peralatan selam dasar (*snorkeling*). Pengambilan sampel bakteri lamun dilakukan secara acak (*random sampling*) di Pulau Bonebatang, dengan cara mengambil daun lamun tua yang utuh dan dalam kondisi yang baik dengan menggunakan pisau atau gunting. Kemudian memasukkan ke dalam kantong plastik yang berisi air laut (Lampiran 1). Sampel lamun dicuci dengan air laut steril, ditimbang 10 gram kemudian dipotong-potong. Setelah itu dimasukkan ke dalam botol gelas yang berisi air laut steril 45 mL dan gliserol 10% (Gambar 5). Sampel yang telah di preparasi dimasukkan ke dalam *cool box* yang berisi es batu untuk dianalisis selanjutnya di Laboratorium.



Gambar 5. Preparasi sampel lamun di lapangan (a. Hambaran lamun di Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar, b. preparasi sampel bakteri lamun, c. sampel lamun)

2. Pembuatan Medium Untuk Isolasi Bakteri

Bakteri yang akan diisolasi membutuhkan medium pertumbuhan untuk kelangsungan hidupnya. Medium yang biasanya digunakan untuk menumbuhkan bakteri yaitu *Nutrien Agar* (NA), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Nutrien Broth* (NB). Berikut merupakan komposisi medium per liter akuades berdasarkan petunjuk dan metode Serendip (2005) yang akan digunakan untuk isolasi bakteri. Urutan pembuatannya adalah sebagai berikut:

a) *Nutrien Agar* (NA)

Komposisi NA per liter akuades terdiri dari 3 g ekstrak khamir, 5 g pepton dan 15 g agar-agar, yang dilarutkan dengan akuades dalam gelas erlenmeyer, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah itu, medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Lampiran 3).

b) *Nutrien Broth (NB)*

Komposisi NB per liter akuades terdiri dari 3 g ekstrak khamir, dan 5 g pepton, yang dilarutkan dengan akuades dalam gelas erlenmeyer, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah itu, medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

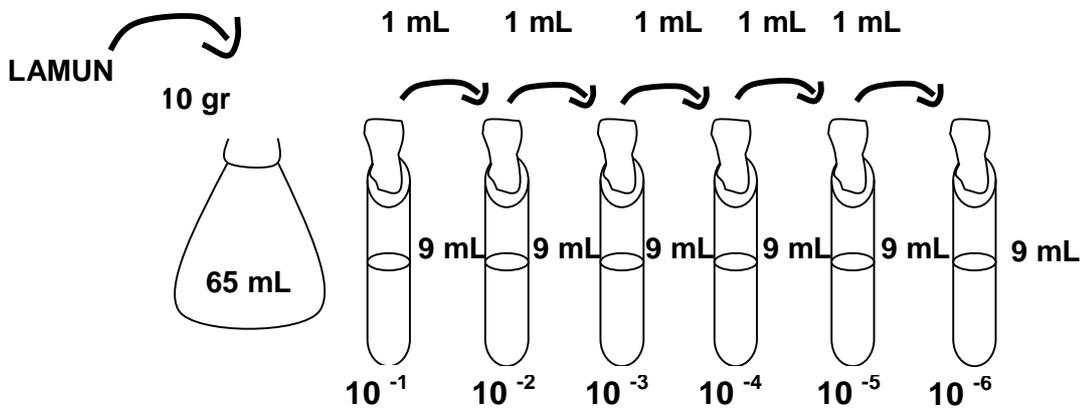
3. Isolasi Bakteri

Semua peralatan yang akan digunakan pada isolasi bakteri disterilkan terlebih dahulu. Peralatan yang terbuat dari gelas, disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat yang tidak tahan pada pemanasan dengan suhu tinggi, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung hingga memijar.

Sampel lamun yang telah disiapkan diblender hingga halus, kemudian diencerkan hingga 10^{-6} . Tujuan pengenceran adalah supaya diperoleh isolat yang tidak begitu padat dan mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml dari larutan stok lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril (pengenceran 10^{-1}) kemudian dikocok dengan vortex, selanjutnya pipet 1 ml sampel dari tabung pengenceran 10^{-1} , lalu dimasukkan ke dalam tabung pengenceran 10^{-2} , dikocok dengan vortex. Mengulangi prosedur pengenceran hingga 10^{-6} (Gambar 6).

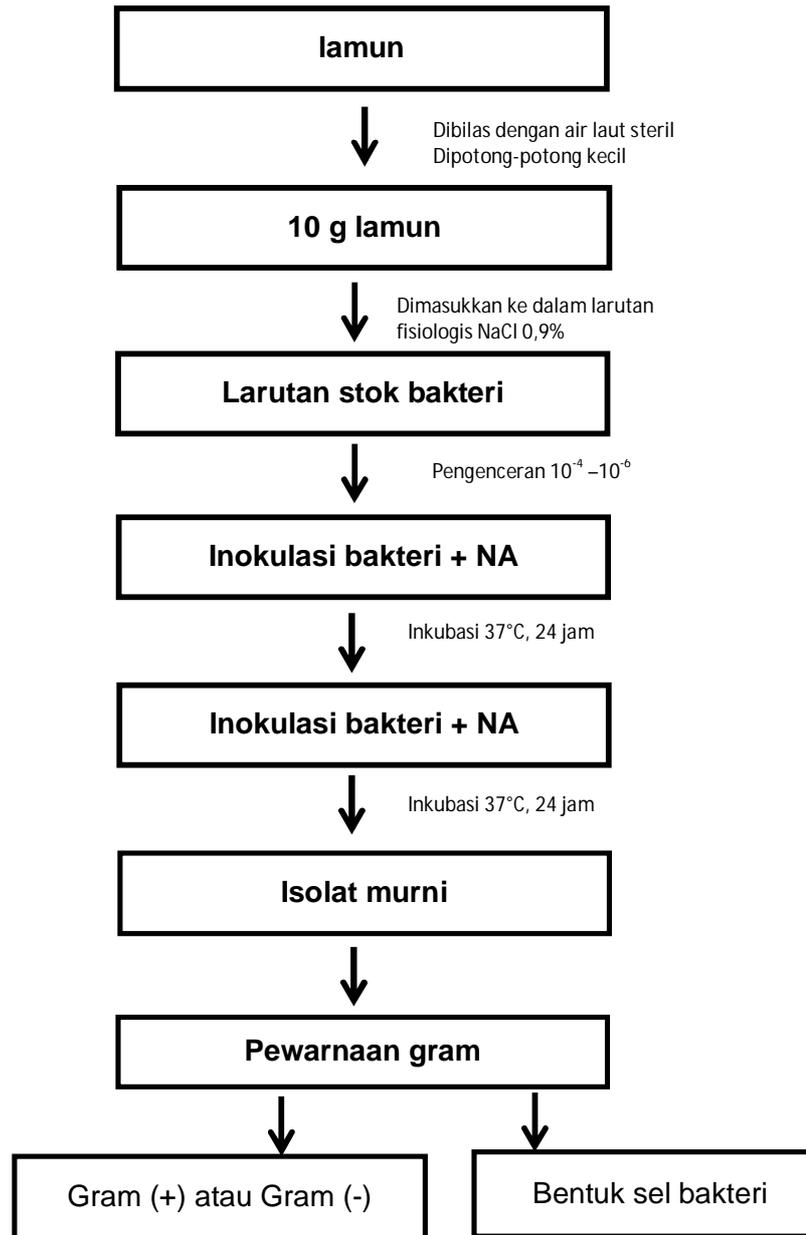
Sampel bakteri dari pengenceran 10^{-4} - 10^{-6} ditanam pada medium *Nutrien Agar (NA)* dengan cara tuang, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi 24 jam dilakukan pengamatan morfologi sel koloni yaitu bentuk, warna, elevasi dan tepi. Koloni yang memiliki morfologi yang berbeda dipisah dengan cara mengambil koloni dengan ose kemudian dilakukan pemurnian pada

medium agar *Nutrien Agar* (NA) dengan cara zig zag. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.



Gambar 6. Pengenceran lamun

Apabila biakan sudah murni yang ditandai dengan bentuk, warna, elevasi dan tepi yang sama dilakukan pewarnaan gram berdasarkan petunjuk Cappucino dan Sherman (1987). Pewarnaan gram dilakukan dengan membuat olesan tipis suspensi dari isolat bakteri berumur 24 jam pada gelas objek yang bersih, kemudian kering-anginkan. Setelah kering, difiksasi dengan cara melewatkan bagian bawah gelas objek diatas api bunsen. Selanjutnya hapusan bakteri ditetesi dengan larutan kristal violet selama 1 menit. Dibilas dengan air kran. Kemudian ditetesi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit. Dibilas dengan air kran. Membilas dengan alkohol 96% selama 20 detik. Dibilas dengan air kran. Ditetesi dengan safranin selama 45 detik. Kemudian dibilas dengan air kran, diletakkan di atas kertas serap. Mengamati hasil pewarnaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x untuk memperjelas morfologi sel bakteri ditetesi dengan minyak imersi di atas cover glass (Lampiran 4). Sel bakteri Gram positif akan berwarna ungu hingga biru, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah. Urutan isolasi bakteri dapat dilihat pada (Gambar 7) berikut :



Gambar 7. Skema tahapan kerja isolasi bakteri dari lamun (*seagrass*)

4. Uji Aktivitas Antibakteri

a) Ekstraksi Senyawa Antibakteri

Kultur isolat bakteri asosiasi lamun diambil 1 ose kemudian ditanam pada medium cair *Nutrient Broth* (NB) steril lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya medium yang berisi isolat bakteri yang telah dikultur murni di masukkan ke dalam *shaker inkubator* selama 48 jam dilakukan pemisahan sel

bakteri dan supernatan dengan sentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit (Gambar 8).



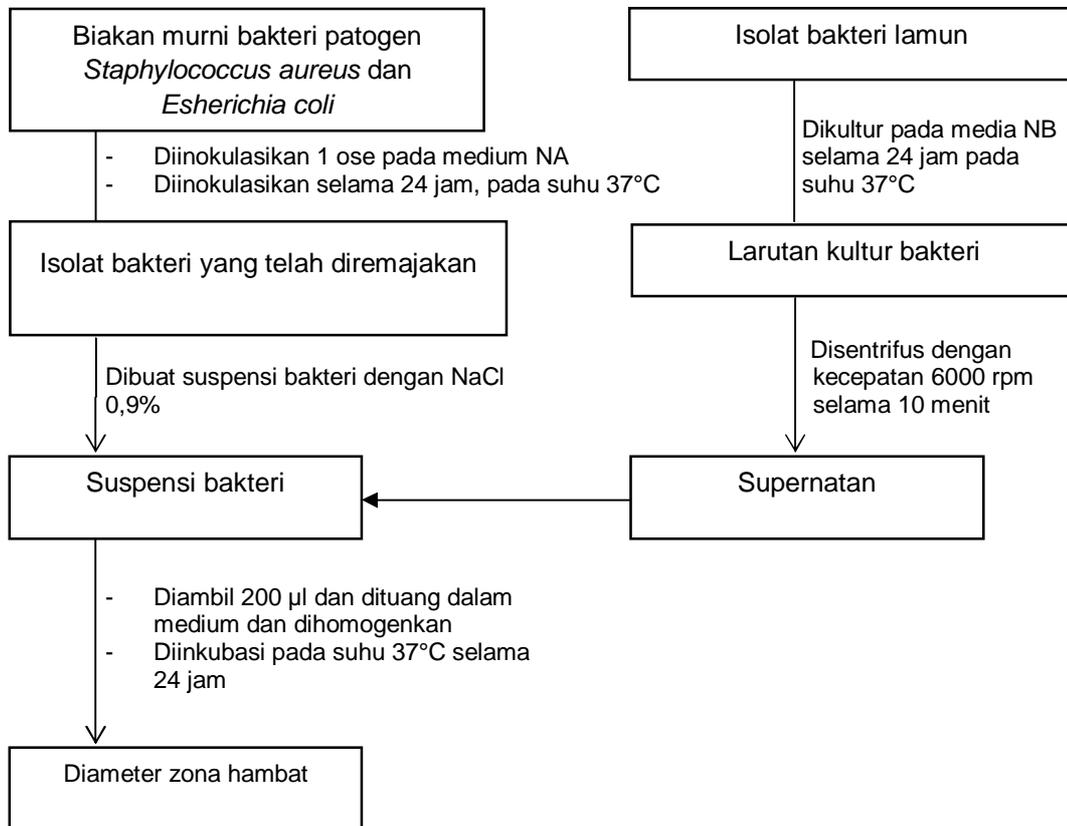
Gambar 8. Pemisahan sel bakteri dan supernatan menggunakan sentrifuse

b) Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar (Brock dan Madigan, 1994) (Gambar 9). Pengujian ini dilakukan dengan menginokulasi supernatan untuk menentukan dihasilkan atau tidaknya antibakteri. Mikroba patogen uji yang digunakan adalah mikroba patogen terhadap manusia, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Mikroba patogen uji yang telah diremajakan diambil sebanyak 200 μ L dan dimasukkan ke dalam botol yang berisi 20 ml medium NA hangat ($<70^{\circ}\text{C}$) dan dicampur hingga homogen. Setelah itu, medium dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat.

Supernatan yang diperoleh diteteskan pada kertas cakram sebanyak 50 μ L lalu dibiarkan sampai kering. Setelah kering, kertas cakram diletakkan pada medium agar secara aseptis. Media kemudian dipra difusi selama 2 jam di dalam *refrigerator* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan tiga kali ulangan (triplo). Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol (30 ppm) sebanyak 50 μ L dan kontrol negatif digunakan

medium NB. Mikroba yang mampu menghasilkan substansi antibakteri akan melakukan penghambatan terhadap bakteri patogen yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram (Lampiran 9).



Gambar 9. Bagan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar

D. Analisis Data

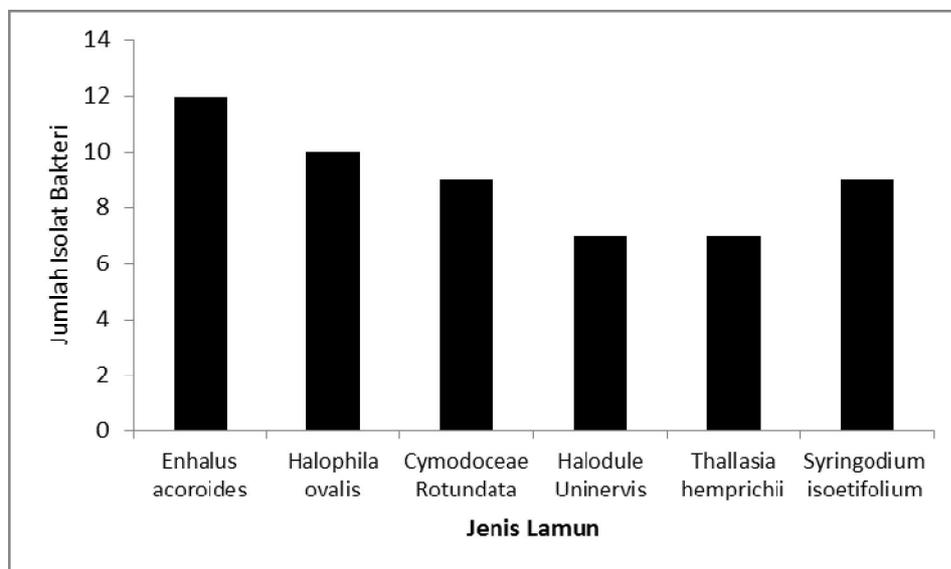
Data morfologi koloni dan morfologi sel dari isolat bakteri yang diperoleh dari beberapa jenis lamun dianalisis secara deskriptif dengan bantuan tabel dan gambar, untuk mengetahui perbedaan daya hambat isolat bakteri asosiasi antara jenis lamun terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan analisis sidik ragam Oneway ANOVA. Bila terdapat perbedaan daya hambat antara jenis lamun dilakukan uji lanjut Duncan. Analisis data tersebut dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 16 (Santoso, 2005).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolat Bakteri Asosiasi Lamun dari Pulau Bonebatang

Berdasarkan hasil identifikasi sampel lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar, ditemukan 6 jenis lamun yang berasal dari Family Potamogetonaceae dan Hydrocharitaceae. Masing-masing famili terdiri dari 3 jenis yaitu: *Cymodocea rotundata*, *Halodule uninervis*, *Syringodium isoetifolium*, *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* dan *Halophila ovalis* (Lampiran 2). Keenam jenis lamun tersebut ditemukan pula pada penelitian sebelumnya oleh Antariksa (2011).

Hasil pengamatan morfologi koloni terhadap bakteri asosiasi lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang didapatkan 54 isolat terdiri dari 12 isolat berasal dari lamun jenis *Enhalus acoroides*, 10 isolat dari *Halophila ovalis*, 9 isolat dari *Cymodocea rotundata*, 9 isolat dari jenis *Syringodium isoetifolium*, 7 isolat dari *Halodule uninervis* dan 7 isolat dari *Thalassia hemprichii* (Gambar 10).



Gambar 10. Jumlah isolat bakteri asosiasi berdasarkan jenis lamun yang berasal dari P. Bonebatang

Dari gambar 10 memperlihatkan bahwa jumlah isolat bakteri terbesar didapatkan pada jenis *Enhalus acoroides*, kemudian terkecil ditemukan pada jenis *Thalassia hemprichii* dan *Halodule uninervis*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh lamun *Enhalus acoroides* memiliki luasan permukaan daun yang lebih luas sehingga bakteri memiliki tempat melekat yang lebih luas (banyak), sedangkan pada *Thalassia hemprichii* dan *Halodule uninervis* memiliki luasan daun lamun yang kecil, sehingga bakteri yang melekat kurang dan terjadi persaingan ruang (tempat). Menurut Sidharta (2000), bakteri laut memiliki kecenderungan untuk berasosiasi dengan suatu lapisan permukaan padat.

Jumlah isolat bakteri asosiasi lamun yang didapatkan pada penelitian ini berbeda dibanding dengan yang telah ditemukan pada penelitian sebelumnya yaitu Shofiatul (2011) mendapatkan 9 strain isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Enhalus* sp. Marhaeni (2011) mendapatkan 23 strain isolat bakteri dari lamun jenis *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* dan *Syringodium isoetifolium* yang dilakukan di perairan pantai Teluk Awur, Jepara Jawa Tengah. Ravikumar *et al.* (2010) mendapatkan 32 strain isolat bakteri yang diisolasi dari lamun jenis *Syringodium isoetifolium* dan *Cymodocea serrulata* dan 10 isolat berasal dari *Halophila ovalis* yang diambil dari selat India. Perbedaan jumlah isolat yang didapatkan kemungkinan disebabkan oleh lokasi yang berbeda sehingga faktor lingkungan yang mendukung kehidupan bakteri juga berbeda. Menurut Fardiaz (1989), jumlah populasi dan pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi dari sifat-sifat fisik, kimia dan struktur makanan dari lingkungan mikroorganisme tersebut.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni dengan menggunakan makroskop didapatkan beberapa bentuk koloni yaitu : akar, titik, bulat, tidak teratur, berserabut, *muraloid* dan *filamentous*. Tepi koloni ada yang berbelah, utuh, berombak, bergerigi, *filiform*, *auriculate* dan *lobate*. Elevasi yang diamati

dari samping terlihat datar, naik, melengkung, membukit dan mencembung. Warnanya bermacam-macam ada yang berwarna putih, putih susu, abu-abu muda, putih pucat, kuning, putih transparan, putih bening, kuning muda, putih kekuningan, kuning muda, kuning tua, kuning mengkilat, putih pucat dan orange (Tabel 1). Morfologi koloni isolat bakteri yang ditemukan pada penelitian ini sesuai dengan pernyataan Cappucino and Sherman (1987) bahwa pada umumnya bentuk koloni bakteri berbentuk *circular, irregular, filamentous, rhizoid*. Elevasi berbentuk *raised, convex, flat, umbonate, crateriform*. Margin yang berbentuk *entire, undulate, filiform, curled* dan *lobate*.

Hasil pengamatan morfologi sel yaitu pewarnaan Gram dan bentuk sel (yang diamati dibawah mikroskop), dari 54 isolat bakteri asosiasi lamun didapatkan morfologi sel yang berbentuk *coccus, spiral, comma* dan *bacill* dan semuanya berGram negatif. Hal ini sesuai dengan pendapat Kathiresan dan Bingham (2001), yang menyatakan bahwa hampir semua bakteri laut bersifat Gram negatif. Keberadaan bakteri laut Gram positif terbanyak ditemukan pada sedimen. Didapatkannya semua isolat Gram negatif diduga karena bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibanding bakteri Gram positif. Sehingga bakteri Gram negatif mampu bertahan dikondisi lingkungan yang ekstrim.

Isolat bakteri yang ditemukan lebih banyak berbentuk batang (*bacill*) dibanding dengan bentuk yang lainnya. Dominannya bakteri berbentuk batang tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya flagel yang digunakan bergerak di perairan untuk mendapat tempat perlekatan. ZoBell (1946) menyatakan bahwa flagellum berfungsi sebagai alat gerak pada beberapa jenis bakteri yang berbentuk batang dan *spiral*. Selanjutnya Aryulina (2005) menyatakan flagellum memungkinkan bakteri bergerak menuju kondisi lingkungan yang

menguntungkan atau menghindar dari lingkungan yang merugikan bagi kehidupannya.

Kehadiran bakteri berbentuk bulat (*cocci*) kemungkinan disebabkan karena bakteri ini tidak memiliki alat gerak sehingga untuk mempertahankan hidup dengan cara melekatkan diri pada suatu benda yang terdapat di perairan. Hal ini didukung oleh pernyataan Hutching dan Saenger (1987) bahwa kebanyakan bakteri coccus terikat atau bergabung sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (solid) karena adanya bahan berlendir sehingga sel-sel saling terikat. Dengan cara ini bakteri dapat membentuk lapisan permukaan yang mengakibatkan bakteri dapat hidup pada alga, rumput laut lamun dan tumbuhan mangrove.

Berikut merupakan hasil pengamatan morfologi koloni dan sel isolat bakteri lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar

Tabel 1. Morfologi koloni dan sel Isolat bakteri lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang

lamun	kode isolat	Morfologi koloni				Morfologi sel	
		bentuk	tepi	Elevasi	Warna	bentuk	Gram
<i>Enhalus acoroides</i> (EA)	EA-1	Akar	berbelah	Datar	putih susu	-	-
	EA-2	Titik	utuh	Naik	putih susu	Coccus	negatif
	EA-3	Bulat	utuh	melengkung	putih susu	Spiral	negatif
	EA-4	Bulat	berombak	Datar	abu-abu muda	Comma	negatif
	EA-5	Bulat	bergerigi	Membukit	putih susu	-	-
	EA-6	tidak teratur	berbelah	melengkung	abu-abu muda	Coccus (monococcus)	negatif
	EA-7	Bulat	berombak	Datar	putih pucat	Coccus	negatif
	EA-8	Bulat	utuh	Mencembung	Kuning	Coccus	negatif
	EA-9	Bulat	utuh	melengkung	putih transparan	-	-
	EA-10	Bulat	utuh	Datar	putih bening	Bacill	negatif
	EA-11	Bulat	utuh	Datar	putih bening	Bacill	negatif
	EA-12	tidak teratur	bergerigi	Datar	putih susu	Bacill (Berantai panjang)	negatif
<i>Halophila ovalis</i> (HO)	HO-1	tidak teratur	berbelah	Datar	abu-abu	Bacill	negatif
	HO-2	Berserabut	berombak	melengkung	putih susu	Coccus	negatif
	HO-3	Bulat	utuh	melengkung	Putih	Coccus	negatif

**Tabel 1
Lanjutan**

	HO-4	Berserabut	filiform	Datar	Putih	Bacill	negatif
	HO-5	Bulat	berombak kecil	Mencembung	putih susu	Coccus	negatif
	HO-6	Muraloid	utuh	Datar	kuning muda	Bacill	negatif
	HO-7	tidak teratur	berombak	Datar	putih susu	Bacill	negatif
	HO-8	bulat	utuh	datar	putih bening	-	-
	HO-9	akar	berombak	datar	putih transparan	-	-
	HO-10	tidak teratur	berombak	naik	putih susu	Bacill	negatif
<i>Cymodocea rotundata</i>	CR-1	tidak teratur	berombak	naik	putih susu	Coccus	negatif
(CR)	CR-2	bulat	utuh	mencembung	putih susu	-	-
	CR-3	bulat	utuh	mencembung	putih kekuningan	Coccus	negatif
	CR-4	tidak teratur	berombak	datar	putih transparan	Coccus	negatif
	CR-5	tidak teratur	auriculate	naik	putih susu	Bacill	negatif
	CR-6	bulat	utuh	datar	abu-abu	Bacill	negatif
	CR-7	berakar	berbelah	datar	putih susu	-	-
	CR-8	bulat	utuh	naik	kuning muda	-	-
	CR-9	bulat	utuh	naik	kuning tua	Bacill	negatif
<i>Halodule uninervis</i>	HU-1	bulat	utuh	datar	putih susu	Coccus	negatif
(HU)	HU-2	bulat	utuh	datar	abu-abu transparan	Bacill	negatif
	HU-3	bulat	utuh	cembung	kuning mengkilat	Coccus	negatif
	HU-4	bulat	utuh	cembung	putih susu	Coccus	negatif
	HU-5	bulat	utuh	cembung	putih mengkilat	Coccus	negatif
	HU-6	titik	berombak	datar	putih abu-abu	-	-
	HU-7	tidak teratur	berombak	naik	putih susu	-	-
<i>Thalassia hemprichii</i>	TH-1	tidak teratur	berombak besar	naik	putih pucat	Bacill	negatif
(TH)	TH-2	tidak teratur	berbelah	datar	abu-abu	Coccus	negatif
	TH-3	bulat	utuh	cembung	putih susu	Coccus	negatif
	TH-4	tidak teratur	bergerigi kecil	naik	putih susu	Bacill	negatif
	TH-5	berakar	berbelah	naik	putih susu	-	-
	TH-6	tidak teratur	berombak kecil	naik	putih susu	Coccus	negatif
	TH-7	bulat	utuh	naik	putih muda	Bacill	negatif
<i>Syringodium isoetifolium</i>	SI-1	bulat	bergerigi	datar	putih susu	Bacill	negatif
(SI)	SI-2	tidak beraturan	berombak besar	naik	putih susu	Bacill	negatif
	SI-3	Bulat	utuh	cembung	Kuning	Bacill	negatif
	SI-4	tidak beraturan	lobate	datar	putih susu	Coccus	negatif
	SI-5	Bulat	utuh	naik	putih susu	Bacill	negatif
	SI-6	Filamentous	filiform	datar	abu-abu	Bacill	negatif

Tabel 1
Lanjutan

SI-7	Bulat	berombak besar	Naik	Orange	Bacill	negatif
SI-8	Bulat	utuh	Cembung	putih susu mengkilat	Bacill	Negatif
SI-9	tidak beraturan	lobate	Datar	putih keabu- abuan	Bacill	negatif

Keterangan : “-“ Isolat bakteri tidak tumbuh atau terkontaminasi

Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 54 isolat, 11 diantaranya tidak diamati morfologi selnya, karena isolat bakteri mengalami kontaminasi dan hanya ada satu koloni pada saat pengenceran sehingga sulit untuk memurnikannya kembali. Berdasarkan hasil pengamatan morfologi sel dari keenam lamun yang berasal dari Pulau Bonebatang pada umumnya bakteri asosiasi yang ditemukan berbentuk *bacill* dan *coccus* kecuali pada lamun *Enhalus acoroides* ditemukan bakteri berbentuk *spiral* dan *comma*.

Banyaknya jumlah dan jenis isolat bakteri yang terisolasi dari daun lamun sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi bagi bakteri di perairan tempat lamun tersebut tumbuh (Railkin, 2004) dan kandungan bahan bioaktif pada tumbuhan tersebut yang dapat menghambat penempelan bakteri termasuk bakteri epifit patogen (Larkum *et al.*, 1989 dan Ravikumar *et al.*, 2010).

Proses asosiasi tumbuhan lamun dengan bakteri dimulai dari kehadiran bakteri pada perairan di lingkungan sekitarnya. Prosesnya diawali dari penempelan materi organik pada permukaan tumbuhan lamun sebagai inangnya maka tahap selanjutnya bakteri tersebut akan memproduksi bahan *eksopolisakarida* (EPS) yang akan memperkuat penempelannya. Penolakan penempelan bakteri tertentu dapat terjadi jika tumbuhan lamun sebagai inangnya menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat penempelan bakteri tersebut. EPS juga berfungsi sebagai perekat hubungan antara bakteri yang satu dengan bakteri yang lain dan dapat menarik bakteri lain yang cocok untuk dapat hidup bersimbiosis. Pada tumbuhan inang, kehadiran EPS tersebut dapat

berfungsi antara lain untuk melindungi diri dari fluktuasi suhu dan kehadiran sinar ultraviolet yang dapat membahayakan dirinya (Ramamoorthy *et al.*, 2001).

Penelitian Riniatsih dan Setyati (2009) memperlihatkan bahwa ekstrak dan serbuk dari jenis lamun *Thalassia hemprichii* menunjukkan bioaktivitas terhadap dua bakteri patogen. Hal ini memungkinkan kurangnya bakteri asosiasi yang ditemukan pada jenis lamun tersebut. Selain itu, faktor lingkungan juga merupakan salah satu faktor penting yang dapat menentukan banyaknya jumlah bakteri pada lamun. Kondisi nutrisi yang cukup rendah akan menyebabkan bakteri cenderung untuk melekat ke permukaan padat dalam hal ini lamun. Dengan kondisi demikian, kesempatan bakteri untuk mendapatkan nutrisi menjadi lebih tinggi (Dewanti dan Haryadi, 1997).

B. Uji Antibakteri Ekstrak Isolat Bakteri Asosiasi Lamun

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dari 54 isolat bakteri asosiasi lamun yang diuji aktivitas antibakterinya, terdapat tujuh isolat bakteri yang ekstraknya mempunyai zona bening terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* yaitu bakteri yang berasosiasi dengan *Enhalus acoroides*, *Halodule uninervis*, *Cymodocea rotundata* dan *Thalassia hemprichii*. Akan tetapi, yang memiliki potensi sebagai antibakteri untuk bakteri *Staphylococcus aureus* hanya didapatkan dari ekstrak isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* dengan kode isolat EA7, EA11 dan EA12. Zona hambat yang dihasilkan EA7, EA11 dan EA12 mendekati diameter zona hambat yang dihasilkan kontrol positif (+). Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak bakteri asosiasi lamun di Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar dapat dilihat pada tabel berikut:

Ekstrak isolat bakteri lamun *Enhalus acoroides*, *Halodule uninervis*, *Cymodocea rotundata* dan *Thalassia hemprichii* hanya memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* tidak dapat dihambat.

Hal ini kemungkinan besar terjadi karena adanya perbedaan tingkat ketebalan struktur dinding sel dari masing-masing bakteri uji. Pelczar dan Chan (1988), menyatakan bahwa *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri dari tiga lapis, sedangkan bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang berdinding sel berlapis tunggal. Struktur dinding sel bakteri *S. aureus* yang berlapis tunggal dan relatif sederhana akan memudahkan masuknya zat-zat yang dapat merusak sel bakteri, sedangkan bakteri *E. coli* struktur dinding selnya berlapis tiga. Membran luar berfungsi sebagai penyaring molekul dan merupakan membran asimetrik yang terdiri dari lapisan fosfolipid, lipopolisakarida, lipoprotein dan protein, sehingga molekul dari luar tidak mudah masuk. Selain itu, bakteri Gram negatif memiliki endotoksin berupa polisakarida yang pada keadaan tertentu bersifat toksik yang mampu mengeluarkan molekul yang akan masuk ke sel.

Menurut Jawetz (1998), ketahanan bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa antibakteri berbeda-beda. Perbedaan kesensitifan bakteri Gram positif dan Gram negatif berkaitan dengan struktur dalam dinding selnya, seperti jumlah peptidoglikan (adanya reseptor, pori-pori dan lipid), sifat ikatan silang dan aktivitas enzim autolitik. Komponen tersebut merupakan faktor yang menentukan penetrasi, pengikatan dan aktivitas senyawa antimikroba.

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein

sel dan merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972).

Struktur dinding sel bakteri Gram positif 90% dari dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan, sedangkan lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat. Asam teikoat mengandung unit-unit gliserol atau ribitol yang terikat satu sama lain oleh ester fosfat dan biasanya mengandung gula lainnya serta D-alanin (Fardiaz, 1989). Selain mengandung asam teikoat, dinding sel bakteri Gram positif juga mengandung asam teikuronat yang bermuatan negatif. Molekul ini bersama lipoteikoat membentuk mikrofibril yang memudahkan pelekatan (Madigan dan Martinko, 2003), sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar dinding sel yang mengandung 5-10% peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida dan lipoprotein. Lipopolisakarida (LPS) tidak hanya terdiri dari fosfolipid, tetapi juga mengandung polisakarida dan protein. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung tiga polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, porin matriks dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas suatu lipid kompleks yang disebut lipid A (Madigan dan Martinko, 2003).

Zona hambat ekstrak bakteri asosiasi lamun yang terlihat pada tabel 2 lamun *Enhalus acoroides* aktivitas antibakterinya cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan jenis lain. Hal ini pula ditemukan oleh Marhaeni (2011) bahwa potensi antibakteri dari bakteri asosiasi lamun *Enhalus acoroides* sebagai penghambat terjadinya *biofouling* di laut. Tingginya aktivitas antibakteri bakteri asosiasi *E. acoroides* dibanding dengan yang lainnya kemungkinan disebabkan oleh besarnya gangguan yang dialami oleh bakteri tersebut. Pada lamun *E. acoroides* ditemukan bakteri berbentuk *spiral* dan *comma* (pada umumnya bakteri berbentuk *spiral* dan *comma* adalah patogen).

Kemampuan isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun dalam menghambat pertumbuhan mikroba target, merupakan bentuk aktivitas antagonis yang dilakukan dengan menghasilkan kandungan senyawa yang bersifat antimikrobia. Biosintesis senyawa antimikrobia berperan penting dalam proses pelekatan, kolonisasi target hingga kompetisi dalam mendapatkan ruang dan nutrisi dengan mikroba lainnya (Long dan Farook, 2001; Romanenko *et al.*, 2008).

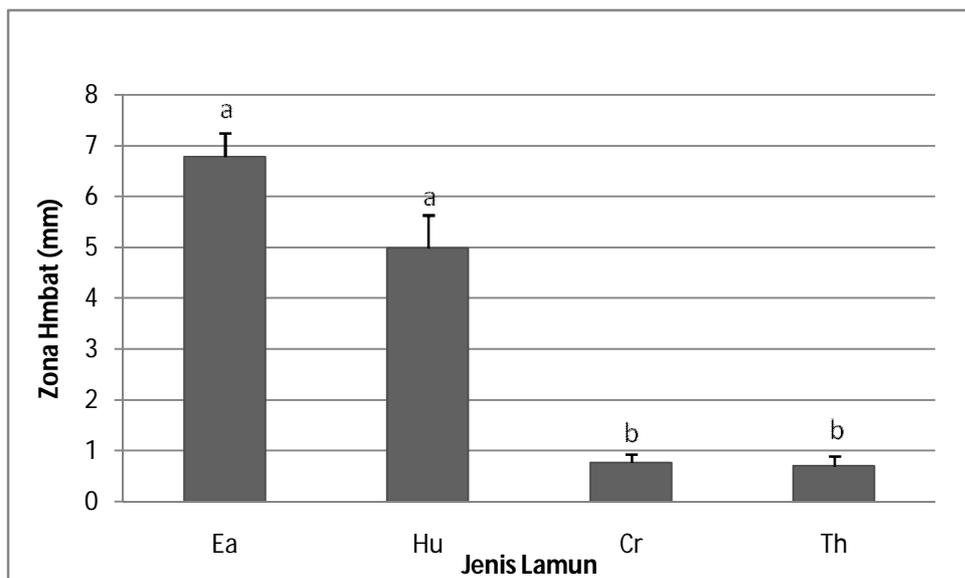
Kandungan senyawa yang bersifat antimikrobia berasal dari metabolit sekunder. Pembentukan metabolit sekunder diatur oleh nutrisi, penurunan kecepatan pertumbuhan, inaktivasi enzim dan induksi enzim. Keterbatasan nutrisi dan penurunan kecepatan pertumbuhan akan menghasilkan sinyal yang mempunyai efek regulasi sehingga menyebabkan diferensiasi kimia (metabolit sekunder) dan diferensiasi morfologi (morfogenesis) (Demain, 1998).

Umumnya metabolit sekunder yang dihasilkan mikroba berfungsi dalam sistem pertahanan sekaligus pengaktivasi jalur penting untuk pertahanan diri (aktivator metabolit). Simbiosis yang menghasilkan metabolit sekunder dapat dipicu karena adanya halangan lingkungan biotik. Pada mikroba laut, kondisi lingkungan dengan nutrisi terbatas menyebabkan penggunaan karbon oleh mikroba laut dan metabolit selular tidak digunakan untuk pertumbuhan sel melainkan karbon yang tersedia akan digunakan produksi metabolit sekunder (Barry dan Waimwright, 1997). Nitrogen juga berperan dalam produksi metabolit sekunder mikroba (Chakraborty dan Bibb, 1997). Berdasarkan pengukuran parameter nitrat yang dilakukan, memperlihatkan bahwa kandungan nitrat sebesar 0,11 mg/l (Gambar 11). Menurut Wetzel (1983), perairan yang memiliki kandungan nitrat sebesar 0-1 mg/l termasuk dalam perairan oligotrofik.

Hasil pengukuran terhadap zona bening disekitar paper disk didapatkan jenis-jenis lamun secara berurut memiliki zona hambat paling besar yaitu dari ekstrak isolat bakteri *Enhalus acoroides*, *Halodule uninervis*, *Cymodocea rotundata* dan *Thalassia hemprichii* (Lampiran 10).

Hasil uji One-way Anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata daya hambat antibakteri dari ekstrak isolat bakteri asosiasi lamun antar jenis lamun pada taraf $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$) (Tabel 4 dan Lampiran 10).

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri isolat bakteri asosiasi lamun *E. acoroides* berbeda nyata dengan isolat bakteri dari *C. rotundata* dan *T. hemprichi*, sedangkan kontrol positif berbeda nyata dengan aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi pada ketiga lamun tersebut di atas (Gambar 12 dan Lampiran 10).



Gambar 12. Diameter zona hambat bakteri pada tiap jenis lamun (Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan $\alpha = 0,05$)

Diameter zona hambat *Enhalus acoroides* menunjukkan nilai yang mendekati diameter zona hambat kontrol positif (+), sehingga ekstrak bakteri isolat dari jenis *Enhalus acoroides* memiliki potensi sebagai antibakteri. Hasil uji antibakteri yang paling baik terlihat pada jenis lamun *Enhalus acoroides* untuk

bakteri *S. aureus*, sedangkan daya hambat dari jenis lamun lain yang masih dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* yaitu jenis *Halodule uninervis* (Lampiran 10). Hal ini kemungkinan karena medium (NB) yang digunakan pada saat ekstraksi isolat bakteri mengandung aquades yang bersifat polar sehingga jika lamun memiliki kandungan senyawa yang bersifat polar maka akan terjadi penarikan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak isolat bakteri lamun. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan ataupun proses pemisahan satu atau beberapa zat yang diinginkan dari campurannya dengan bantuan pelarut. Zat yang akan diekstrak hanya dapat larut dalam pelarut yang digunakan, sedangkan zat lainnya tidak akan larut. Bahan pelarut mengalir ke dalam ruang sel sehingga menyebabkan protoplasma membengkak dan menyebabkan kandungan sel akan berdifusi ke luar sel (Achmadi, 1992).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Bentuk morfologi koloni isolat bakteri yang didapatkan dari bakteri asosiasi berbagai jenis lamun adalah akar, titik, bulat, tidak teratur, berserabut, *muraloid* dan *filamentous*. Bentuk sel isolat bakteri yang didapatkan adalah *coccus*, *comma*, *spiral* dan *bacill*. Semua isolat bakteri asosiasi lamun yang didapatkan termasuk dalam golongan Gram negatif (-).
2. Terdapat tujuh ekstrak isolat bakteri yang memiliki zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu bakteri yang berasosiasi dengan *E. acoroides*, *H. uninervis*, *C. rotundata* dan *T. hemprichii*. Akan tetapi, hanya terdapat tiga ekstrak isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* yang aktif memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Saran

Isolat bakteri asosiasi lamun *E. acoroides* mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, untuk penerapannya perlu dilakukan penelitian lanjutan identifikasi ketiga isolat bakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. 2006. Isolasi dan identifikasi mikroba asosiasi sponge *Axinella* sp. *Jurnal ilmu Pertanian Indonesia* 11 (3) : 1-5.
- Achmadi, S. S. 1992. *Teknik kimia organik*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Aksornkoe, S. 1993. Ecology and management of mangrove. IUCN. Bangkok, Thailand.
- Antariksa, I. 2011. Distribusi Makrozoobentos pada Daerah Padang Lamun di Perairan Pulau Bonebatang. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Aryulina, D. 2005. *Biologi I*. Jakarta: Erlangga.
- Barber, B. J. 1985. Effects of elevated temperature on seasonal in situ leaf productivity of *Thalassia testudinum* banks ex koning and *Syringodium filiforme* kutzing. *Aquatic Botany* 22:61-69.
- Barry, K. J. dan Wainwright, N. R. 1997. Biosynthetic induction of a secondary metabolites by a marine bacterium under nutritional stress: potential role of the incomplete oxidation of an organic acid. *Biroll Bull* 193: 274-275.
- Brockman, F. J., Denovan, B., Hicks, R. J dan Fredicson, J. K. 1989. Isolation and characterization of quinoline degrading bacteria from subsurface sedimen. *Appl. and Environm. Microbiology*.
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Jack, P. 1994. *Biology of Microorganisms Seven Edition*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Brooks, I. 2001. *Recovery of anaerobic bacteria from four children with postthoracotomy sternal wound infection*. Pediatrics.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., Wootton M. 1987. *Ilmu Pangan Edisi kedua*. Purnomo, H dan Adiono (penerjemah). Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: Food Science.
- Chakraburty, R. dan Bibb, M. J. 1997. The ppGpp Synthetase gene (relA) of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) plays a conditional role in antibiotic production and morphological differentiation. *J Bacteriol* 179: 5854-5861.
- Chaniago, W. 1994. Studi Kualitas Fisika Kimia Air di daerah Estuaria Sungai Teko yang Mendapat Limbah Pabrik Gula arasoe Bone untuk Pembangunan Budidaya Pantai. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Cappucino, J.G., and Sherman, N. 1987. *Microbiology, A Laboratory Manual*. California. Menko Park. Hal. 31, 63, 75, 101, 111, 171 dan 179.
- Dart. 1996. *Microbiologi of the Analytical Chemist. The royal society of chemistry*. London.
- Dewangga, A. 2011. *Pengaruh lingkungan dan fisiologis terhadap pertumbuhan mikroba*. Surakarta.
- Dewanti, R., dan Haryadi. 1997. Pembentukan biofilm bakteri pada permukaan padat. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*, 8: 70-76.
- Fardiaz, S. 1983. *Bakteriologi Keamanan Pangan*. Jilid 1. Bogor. Teknologi Pangan dan Gizi, IPB.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. PAU Pangan dan Gizi, IPB.
- Fenchel, T. 2001. Microorganisms (Microbes), Role Of: *Encyclopedia of Biodiversity* 4 : 207-219.
- Feng, Y., Shen, D., and Song, W. 2006. Rice endophyte pantoea agglomerans YS19 promotes hoost plant growth and effects allocations of host photosynthates. *Journal Appl. Microbiol.* 100, 938-945.
- Gaman, P. M. and Sherington, K. B. 1994. Ilmu Pangan: Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi. *Gajah Mada University Press*. Yogyakarta.
- Ganiswara. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi IV*. Jakarta: Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Ghadin, W. C. Y., Yun, S. T. S., Hsien, K. T., Yi., Li-Hwei, S. 2003. Identification of *B. pseudomallei* by 16S rDNA Sequencing. *Sgh Proceedings*. 12(2), 52-55.
- Hung, P. Q., dan Annapurna, K. 2004. Isolation and Characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glicine* sp.) *Omonrice* 12, 92-101.
- Hutching, P. dan Saenger, P. 1987. Ecology of Mangrove Aus. *Eco. Series*. University of Queensland Press St Lucia, Quesland.
- Jawetz, E. Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-20. Nugroho, E., Maulany, F. R., penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*.
- Jawetz, E. 1998. Obat-bat kemoteuratika. Di dalam: Katzug BG, editor. Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran UNSRI, penerjemah. *Farmakologi dasar dan klinik*. Jakarta: ECG. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.

- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Kathiresan, K dan Bingham B. L. 2001. Biology of mangrove and mangrove ecosystems. *Centre of advanced study in marine biology*, Annamalai university. Huxley College of Environmental Studies, Western Washington University. Annamalai, India.
- Kayser. 2005. *Medical Micobiology*. New York: Thieme Stuttgart.
- Kirkman, H. 1997. Seagrasses of Australia: Australia : State of the Environment Technical Paper Series (Estuaries and the Sea). *Central Queensland University Publishing Unit*, Australia.
- Kline, D. I., Kuntz, N. M., Breitbart, M., Knowlton, N & Rohwer, F. 2006. Role of elevated organic carbon levels and microbial activity in coral mortality. *Marine ecology progress series*, 314: 119-125.
- Kuo, J and C. Den Hartog. 2006. *Seagrass Morphology, Anatomy and Ultrastructure*. In Anthonyw. D. Larkum, A.D., R. J. Orth and C. M. Duarte. *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Published by Springer, The Netherlands.
- Kurniawan, M. L. 2010. Analisis kecenderungan persebaran meifauna pada jenis lamun yang dipengaruhi oleh variabel lingkungan. *Skripsi*. Surabaya: Institut Teknologi Bandung.
- Larkum. A. W. D., Mc Comb, A. J. and Shepherd, S. A. . 1989. *Biology of seagrasses: a treatise on the biology of seagrasses with special reference to Australian region*. Elssier, Amsterdam: 6-73.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis mikroba di laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Ljunger, C. 1962. Introductory investigations on ions and thermal resistance. *Physiol.* 15: 148-160.
- Long, R. A. dan Farook, A. 2001. Antagonistic interactions among marine pelagic bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 67: 4975-4983.
- Lyles, S. 1969. *Biology of microorganism*. Japan: Toppan Company, Ltd.
- Luthana, K. 2008. *Prosedur Ekstraksi Senyawa Fenol dan Antibakteri Dari Tanaman Gambir yang Disertai Metode Analisisnya*.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. J. 2003. *Biology of microorganisms* (edisi ke-9). USA: Pearson Education, Inc.

- Mano *et al.* 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. 2011. Potensi bakteri asosiasi tumbuhan lamun sebagai penghambat terjadinya *biofouling* di laut. *Disertasi*. Sekolah pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Massinai, A. 2012. Bakteri Asosiasi Karang Batu yang Terinfeksi Penyakit Tumor (*growth anomaly*). *Jurnal pasca sarjana unhas*. (in press).
- Merchant, I. A. and Parker, R. A. 1961. *Veterinary Bacteriology and Virology* The Iowa State University Press, Ames, Iowa, United States of America. Pp 306-308.
- Muliani, A. Suwanto dan Hala, Y. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal Laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon fab.*). *Hayati* 10 (1): 6-11.
- Murni, A. 1998. Penapisan Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides L.*). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Nontji, A. 1987. *Laut Nusantara*. Penerbit Jambatan, Jakarta. Hal. 156-160
- Ogensky, E. L. and Umbreit W. W. 1959. *An introduction to Bacterial Physiology*. 2nd Ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London: 117-134.
- Pelczar, M. J., and Reid J. R. 1972. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Alih bahasa: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S, Tjitrosomo dan S. L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1*. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. UI Press, Jakarta.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 2*. Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S. Angka, S. L., penerjemah; Jakarta: UI dari *Elements of Microbiology*.
- Philips, R. C. 1988. *Seagrasses*. Smithsonian Contribution to the Marine Science. Number 34. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.
- Radjasa, O., Karwur F., Wusqy N. dan Limantara L. 2009. Elusidasi biopigmen serta identifikasi molekuler berbasis 16S rDNA terhadap bakteri yang berasosiasi dengan *Enhalus acoroides*. *Prosiding seminar nasional pengolahan produk dan bioteknologi kelautan dan perikanan*. (*Abstract*).
- Railkin, A. I. 2004. *Marine biofouling. Colonization processes and defence*. CRC Press. Florida.

- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R. 2001. *Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plant against pest and diseases*. Crop protection. 20: 1-11.
- Ravikumar, S., Thajuddin N., Suganthi P., Jacob S and Vinodkumar T. 2010. Bioactive Potential of seagrass bacteria against Human bacterial Pathogens. *Journal of Environmental Biology*. 387-389.
- Riniatsih, I dan Setyati W. A. 2009. Bioaktivitas ekstrak dan serbuk lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* pada *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyii*. *Journal*. Vol. 14(3): 138-141.
- Romanengko, L. A., Naoto, T., Masataka, U., Natalia, I. K., Valery, V. M. 2008. Diversity and antagonistik activity of sea ice bacteria isolated from the sea of japan. *Micro Environ*. 23: 209-214.
- Romimohtarto, K dan Juwana S. 1999. Biologi laut ilmu pengetahuan tentang biota laut. *Pusat penelitian dan pengembangan oseanologi LIPI*. Jakarta.
- Ryan, R. P. K., Germaine, A. Franks, D. J., Ryan, D. N. Dowling. 2007. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett*. 278, 1-9.
- Sangaji, F. 1994. Pengaruh Sedimen Dasar Terhadap penyebaran, kepadatan, keanekaragaman dan Pertumbuhan Padang Lamun di Laut Sekitar Pulau barrang Lombo. *Tesis, Pascasarjana, Universitas Hasanuddin*. Ujung Pandang.
- Santoso, S. 2005. *Metodelogi penelitian kuantitatif & kualitatif*. Jakarta. Prestasi pustaka publisher.
- Shofiatul, M. A. 2011. Potensi antibakteri dari bakteri asosiasi tumbuhan lamun *Enhalus* sp. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang. (Abstrak).
- Sidharta, B. R. 2000. *Pengantar mikrobiologi kelautan*. Universitas Atmajaya. Yogyakarta. 122 hal.
- Suendra. 1991. *Buku pedoman mata ajaran mikrobiologi lingkungan*. Pusat pendidikan tenaga kesehatan Depkes RI. Jakarta.
- Taylor, M. T., Radax. R., Steger. D., Wagner. M. 2007. Sponge-associated microorhanisms: evolution, ecology and biotecnological potential. *Microbio Mol Bio Rev*. 2:295-347.
- Tomascik, T., Mah A. J., Nontji A., and Moosa M. K. 1997. *The Ecology of the Indonesian Seas*. Part Two. The Ecology of Indonesia Series. Volume VIII.

- Tortora, G. J and B. Derrickson. 2006. *Principles of anatomy and physiology*. 11th edition. USA: Wiley.
- Volk, W. A and Wheeler, M. F.. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Alih Bahasa: Markham. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama.
- Watermann, B. 1999. Alternative antifoulant techniques present and future. *LimnoMar*. 1-6.
- Wetzel, R. G. 1983. *Limnology* 2nd edition. W. B. Saunders company. Philadelphia. 767.
- Wood, E. J. F. 1953. Heterotrophic bacteria in marine environments of eastern Australia. *Aust. J. Mar. Fresw. Res.* 4: 160-200.
- ZoBell, C. E. & Conn, J. E. 1940. Studies on the thermal sensitivity of marine bacteria. *J. Bact.* 40: 223-238.
- ZoBell, C. E. 1946. *Marine microbiology*. A monograph on hydrobacteriology. Chronica botanica Co. Waltham, Mass. 240 hal.