Berita Biologi
LIPI
Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

10.14203/beritabiologi.v20i1.3991
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

KARAKTERISASI DAN INDETIFIKASI ISOLAT BAKTERI SM4 DARI SPONS *Stylissa massa* SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI PATOGEN

[*Characterization and Identification of SM4 Bacterial Isolate from Stylissa Massa Sponse as Producing Antimicrobial Compounds Against Pathogenic Bacteria*]

Lukas Pardosi[1]✉, Gergonius Fallo[2], dan Paulus Jehaman[3]

Program Studi Biologi Fakultas Pertanian Universitas Timor
Jalan Km. 09, Kelurahan Sasi,Kecamatan kota Kefamenanu,
Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur
email: lukaspardosi51@unimor.ac.id

ABSTRACT

East Nusa Tenggara (NTT) is one of the archipelagic provinces in Indonesia with a sea area of 200,000 km² and contains potential marine resources including the *Stylissa massa* sponge. Bacteria have been known to associate with sponges and have the ability to produce antimicrobial compounds. This study aims to characterize, identify the *16S rRNA* gene, and test the bioactive compounds of SM4 bacterial isolates from the *Stylissa massa*. The bacterial isolates of SM4 were previously cultivated on NA medium, then characterized by macroscopic morphology, and biochemistry by citrate test and TSIA test. The culture was extracted using petroleum ether solvent and the antibacterial activity was tested against *E. coli* and *S. aureus* by the well method. The isolates were then identified based on the *16S rRNA* gene. The results showed that, SM4 isolated had small colony size, yellow color, round colony shape, flat elevation, flat margins, while biochemically they had positive results with Citrate and TSIA tests. The antagonist test of the SM4 bacterial isolate was found to have the ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherechia. coli*, while the antibacterial activity test of the bioactive compound bacterial isolate SM4 was known to have the ability to inhibit the growth of *E. coli* with an inhibition zone of 1.56 mm and *S. aureus* 1.99 mm. The results of the molecular identification of the bacterial isolate SM4 had 99% similarity with the *Bacillus cereus* strain Nr_074540.1.

Key words: *Stylissa massa* sponge, antimicrobial, *16S rRNA* gene, bacterial isolates SM4

.

ABSTRAK

Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu Provinsi Kepulauan di Indonesiadengan luas laut 200.000 km² dan terkandung potensi sumber daya laut termasuk spons *Stylissa massa*. Bakteri telah diketahui berasosiasi dengan spons dan memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi, mengidentifikasi gen 16S rRNA, dan menguji senyawa biaoktif isolat bakteri SM4 dari spons *Stylissa massa*. Isolat bakteri SM4sebelumnya diremajakan pada mediumNA, kemudian dikarakterisasi secara morfologi makroskopik, dan biokimia dengan uji sitrat dan uji TSIA. Kultur diekstraksi menggunakan pelarut petroleium eter dan aktivitas antibakteri diuji terhadap *E. colli dan S. aureus* dengan metode sumur. Isolat kemudian diidentifikasi berdasarkan gen *16S rRNA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, isolat SM4 memilki ukuran koloni kecil, warna kuning,bentuk koloni bulat, elevasi datar, tepian rata, sedangkan secara biokimia memiliki hasil positifdengan uji Sitrat dan TSIA. Uji antagonis dari isolat bakteri SM4 diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan uji aktivitas antibakteri dari senyawa bioaktif isolat SM4 diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan zona hambat 1,56 mm dan *S. aureus* 1,99 mm. Hasil identifikasi molekuler isolat SM4 memiliki kemiripan 99 % dengan *Bacillus cereus* strain Nr_074540.1.

Kata kunci: Spons *Stylissa massa*, Antimikroba, *16S rRNA*, Isolat Bakteri SM4

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan kawasan kepulauan terbesar di dunia yang memiliki wilayah laut yang luas sekitar 3,1 juta km². Sumber daya laut merupakan sumber daya hayati yang sangat potensial untuk dikembangkan dan dikelola secara maksimal. Wilayah laut Indonesia yang luas menyimpan banyak kekayaan diversitas laut yang dapat di eksplor. Kekayaan dan keanekaragaman hayati laut tersebut diantaranya mangrove, terumbu karang, padang lamun, berserta golongan biota laut lainnya seperti ikan, moluska, krustacea, spons, algae dan penyu (Suparno, 2005).

Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu provinsi kepulauan di Indonesia yang memiliki luas laut sekitar 200.000 km², dengan hamparan laut yang luas menjadikan laut NTT kaya akan potensi sumber daya laut seperti perikanan, rumput laut, terumbu karang dan spons (BPS, 2018). Spons merupakan salah satu jenis terumbu karang yang termasuk dalam kelompok invertebrata. Spons juga merupakan inang untuk bermacam-macam mikroba seperti bakteri. Hasil penelitian (Marzuki *et al.,* 2015) di Pantai Melawai, Kalimantan Timur juga menemukan bakteri berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. Berdasarkan hasil identifikasi gen *16S rRNA* didapatkan bakteri tersebut memiliki kemiripan 89% terhadap *Bacillus subtilis* dan *Bacillus flexus*.

Asosiasi bakteri dan spons merupakan simbiosis mutualisme. Tubuh spons yang berpori dapat digunakan mikroba sebagai tempat hidup dan perlindungan dari predator. Hubungan simbiosis mutualisme antara spons dan bakteri

*Kontributor Utama
*Diterima: 15 Agustus 2021 - Diperbaiki: 11 Januari 2022- Disetujui:

mempengaruhi siklus biogeokimia dalam menghasilkan senyawa kimia seperti antimikroba. Senyawa kimia yang dihasilkan spons akan menginduksi mikroba yang hidup di dalam spons untuk menghasilkan metabolit sekunder spesifik. Metabolit sekunder spesifik terekspresi sebagai bentuk respon mikroba terhadap kondisi lingkungan, dan memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antimikroba (Nofiani, 2009).

Antimikroba merupakan salah satu metabolit sekunder yang bisa dihasilkan oleh mikroba, terutama bakteri ataupun jamur yang memilki kemampuan dalam menghambat maupun membasmi mikroba patogen. Hasil penelitian (Sunny *et al.*, 2016) diperoleh 2 isolat yang potensial sebagai antimikroba yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, dengan masing-masing diameter zona hambat 1,5 mm dan 2,6 mm. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakterisasi dan mengidentifikasi isolate SM4 berdasarkan *16S rRNA*, serta mengetahui kemampuan ekstrak senyawa bioaktif isolat SM4 terhadap bakteri patogen.

MATERIAL DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan: oven, *hot plate*, tabung reaksi, cawan petri, timbangan analitik, labu Erlenmeyer, gelas ukur, mikropipet, destilator, lampu Bunsen, spatula, penggaris, kamera dan alat corong

Bahan

Bahan yang digunakan: isolat SM4, Media Nutrient Agar (NA), Media Nutrient Broth (NB), Media Plant Count Agar (PCA), Media Mueler Hinton Agar (MHA), Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Media Simmons Citrat Agar (SCA), larutan petroleum eter, aquades, alkohol, kapas dan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus.*

Peremajaan isolat bakteri SM4

Isolat Bakteri SM4 yang dikarakterisasi dalam penelitian ini merupakan koleksi kultur peneliti dilaboratorium Biologi Universitas Timor. Isolat bakteri SM4 diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke media NA kemudian diinkubasi 1 x 24 jam.

Karakterisasi isolat bakteri SM4

Isolat bakteri SM4 dikarakterisasi secara morfologi (makroskopis) berdasarkan bentuk, warna, elevasi, ukuran, dan tepi koloni. secara biokimia mencakup uji Sitrat dan Uji TSIA.

Uji antagonis isolat bakteri SM4 terhadap bakteri patogen.

Pengujian antagonis dari isolat bakteri SM4 dilakukan dengan menguji bakteri simbion terhadap dua bakteri patogen (*E. coli* dan *S. aureus*) dengan menggunakan media NA dan MHA. Isolat SM4 dan bakteri patogen dikultur 1x24 jam pada media NA. Pengujian aktivitas antagonis isolat SM4 dilakukan dengan cara ditumbuhakan pada media Mueller Hinton Agar. Tahap selanjutnya isolat SM4 ditotol diatas media yang sudah digores bakteri patogen. Aktivitas antagonis bakteri SM4 diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Marinho *et al.,* 2009).

Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri SM4

Pengukuran kurva pertumbuhan isolat SM4 dilakukan dengan menghitung jumlah populasi bakteri yang hidup dengan metode agar sebar. Metode sebar dilakukan dengan menyebarkan 0,1 ml pada media Plant Count Agar (PCA). Bakteri terlebih dahulu ditumbuhkan pada media Nutrient Broth kemudian diinkubasi dan dishaker. Setelah mencapai fase eksponensial isolat bakteri diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis 0,9%. Langkah selanjutnya adalah dilakukan serangkaian pengenceran berseri dan disebar di media PCA dan diinkubasi kemudian dihitung jumlah koloni per 4 jam sampai mencapai fase kematian.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif Isolat Bakteri SM4 dan Pengujiannya Terhadap Bakteri Patogen

Isolat bakteri SM4 ditumbuhkan di media Nutrien Broth (NB) sebanyak100 ml dan di inkubasi 64 jam. Isolat yang sudah mengalami pertumbuhan dilarutkan dengan menggunakan pelarut petroleum eter sebanyak 100 ml kemudian di ektraksi dan dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan corong pisah sampai didapatkan hasil yang murni. Senyawa Bioaktif dari hasil ekstraksi kemudian dipisahkan dengan pelarut Petroleum eter dengan cara diuapkan. Hasil ekstraksi ditampung dan disimpan di dalam botol vial.

Pengujian Antibakteri Dari Ekstrak Isolat SM4

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumur.Uji aktivitas antimikroba diawali dengan pembuatan sumur dengan metode modifikasi *Kirby Bauer* pada media MHA. Selanjutnya, pada media tersebut digores kultur bakteri patogen. Ekstrak bakteri hasil ekstraksi diambil 10µL dan dimasukkan ke sumur kemudian diinkubasi selama 1x 24 jam.

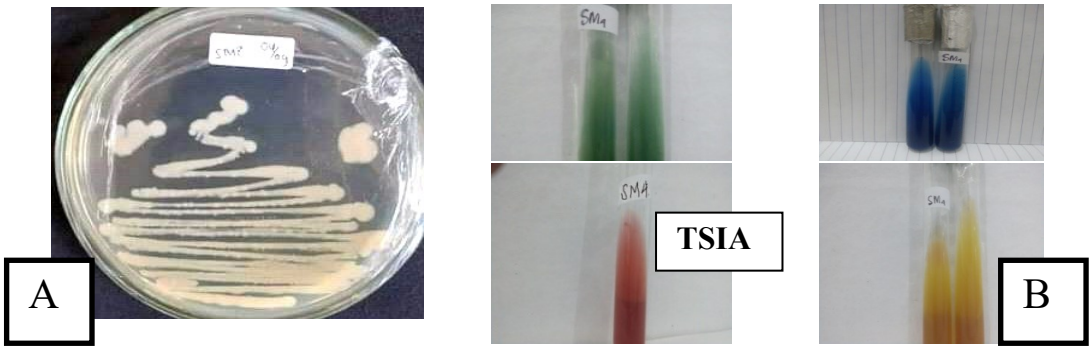
Identifikasi Isolat SM4 Berdasarkan Gen 16S rRNA

Isolasi DNA Genomik dari kultur bakteri dilakukan dengan Genomic DNA Mini Kit (Geneaid) yang telah dimodifikasi. DNA yang telah diamplifikasi kemudian diseparasi dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Gel direndam dalam campuran larutan TrisBorat-EDTA buffer dan etidium bromida. Visualisasi dilakukan dengan sinar UV pada UV-transiluminator. Hasil deteksi didokumentasikanSekuensing dilakukan untuk menentukan urutan nukleotida pada fragmen DNA yang terdeteksi dari hasil visualisasi DNA yang teramplifikasi dalam proses PCR menggunakan mesin autosequencing (Marchesi *et al.*, 1978). Proses sekuensing dilakukan dengan mengirim sampel ke *Macrogen* Korea. Pohon filogenetik didesain dengan menggunakan program Mega5 dengan menggunakan metode *Neighbor- Joining.*

Hasil

Karakterisasi Biokimia Isolat SM4

Hasil pengujian isolat bakteri SM4 secara biokimia dilakukan pada media TSIA dan SCA. Pada pengujian karakter bakteri pada media SCA ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapatmenggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Dalam media TSIA Terdapat perubahan media dari warna merah menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat memfermentasikan gula. Pengujian isolat SM4 berdasarkan karakterisasi biokimia dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Karakterisasi Biokimia isolat SM4. A, Bentuk koloni isolat yang ditumbuhkan pada media NA inkubasi 1x 24jam. B, Hasil Uji Biokimia isolat SM4 pada dua jenis media yang berbeda, SCA dan TSIA, inkubasi 1x 24Jam (*Biochemical characterization of SM4 isolates. A, Colony form of isolates grown on NA media for 1x 24 hours incubation. B. Biochemical test results of SM4 isolate on two different media types, SCA and TSIA, 1x 24 hours incubation*).

Karakterisasi Morfologi Isolat SM4

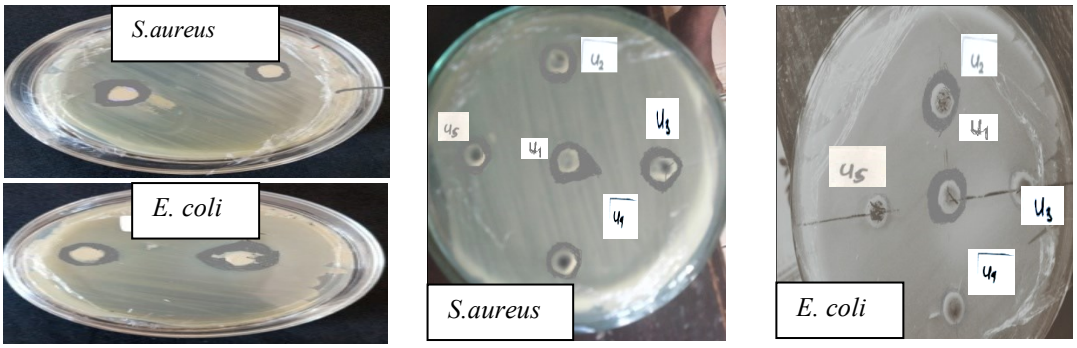
Isolat bakteri SM4 merupakan isolat bakteri koleksi laboratorium Biologi Fakultas Pertanian Universitas Timor yang akan dikarakterisasi secara morfologi dan biokimia (Gambar 1). Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri SM4 memiliki warna koloni kuning,bentuk koloni bulat,elevasi datar,tepi koloni rata, dan ukuran koloni kecil.

Tabel 1. Karakterisasi isolat SM4 (*Characterization of Isolate SM4*).

Karakterisasi isolat SM4 Morfologi dan Biokimia (*SM4 isolate characterization Morphology and Biochemistry*)	
Bentuk (*Form*)	Bulat (*Round*)
Elevasi (*Elevation*)	Datar (*Flat*)
Marjin (*Margin*)	Rata (*Flat*)
Warna (*Color*)	Kuning (*Yellow*)
Ukuran (*Size*)	Kecil (*Small*)
Tsia	+
Sitrat (*Citric*)	+

Uji Antagonis Dan Pengujian Senyawa Bioaktif Isolat SM4 Terhadap Bakteri Patogen

Isolat SM4 yang diuji terhadap bakteri patogen memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter hambatan sebesar 0,971 mm terhadap *Escherichia coli* dan 0,825 mm terhadap *Staphylococcus aureus* (Ganbar 2A). Hasil pengujian isolat bakteri SM4 terhadap bakteri patogen dapat dilihat selengkapnya pada Tabel 2. Ekstrak senyawa bioaktif yang sudah dipisahkan dari pelarutnya menunjukkan kemampuan menghambat bakteri patogen sebesar 1,56mm terhadap bakteri *E. coli* dan 1,99 mm terhadap bakteri *S. aureus* (Gambar 2B).



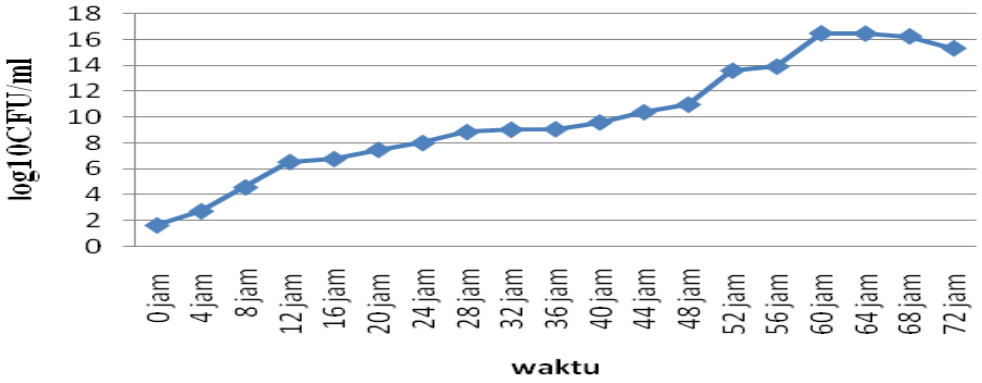
Gambar 2. Aktivitas antibakteri isolat SM4 terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. A, Hasil pengujian antagonis isolat bakteri SM4. B, Hasil pengujian ekstrak produksi isolat SM4 (*Antibacterial activity of SM4 isolate against S. aureus and E. coli bacteria. A, The results of the antagonist test for SM4 bacterial isolates. B, The test results of the SM4 isolate production extract*).

Tabel 2. Rata- rata diameter hambatan dari ekstrak isolat bakteri SM4 dengan menggunakan pelarut petroleum eter (*Average diameter of inhibition of bacterial isolate extract SM4 using petroleum ether solvent*).

Kode (*Code*)		**Ulangan** (*Test*)	**Diameter zona hambat (mm)** (*Inhibition zone diameter*) (mm)
Isolat (*Isolate*)	**Bakteri uji** (*Test Bacteria*)		
SM4	*E. coli*	1	1,36
		2	1,47
		3	1,61
		4	1,49
		5	1,87
		rata-rata	1,56
	S. aureus	1	2,87
		2	2,27
		3	2,06
		4	1,08
		5	1,66
		rata-rata	1,99

Kurva Pertumbuhan Isolat SM4

Hasil Pengukuran kurva pertumbuhan isolat bakteri SM4 menunjukkan adanya peningkatan pertumuhan jumlah koloni dari setiap fase yang diamati. Fase adaptasi (lag) memiliki waktu yang relatif singkat yaitu 0–4 jam. Fase logaritma ditandai dengan peningkatn jumlah pertumbuhan yang signifikan pada jam ke 8–60, sementara fase stasioner terjadi pada jam ke 60–68 dimana pada fase ini ditandai dengan pertumbuhan yang konstan. Pada jam ke 72 pertumbuhan mengalami fase kematian hal ini sejalan dengan penurunan jumlah koloni bakteri.



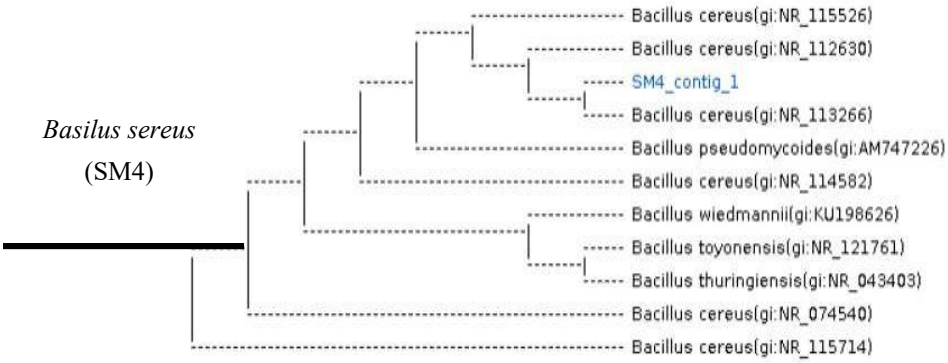
Gambar 3. Diagram kurva pertumbuhan isolat SM4 pada media PCA selama 72 jam inkubasi pada suhu 31°C (*Growth curve diagram of SM4 isolate on PCA medium for 72 hours incubation at 31°C*).

Hasil identifikasi isolat SM4 berdasarkan 16s rRNA

Hasil indentifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat SM4 memiliki Tingkat kemiripan 99 % terhadap bakteri *Bacillus cereus* Strain_ NR_074540 (Tabel 3). Hasil analisis filogenetik juga menunjukan bahwa Isolat SM4 memiliki hubungan kekerabatan dengan bakteri *Bacillus cereus* strain gi:NR_113266 (Gambar 4), seingga dapat disimpulkan bahwa isolate SM4 adalah *Bacillus cereus*.

Tabel 3. Hasil identifikasi Isolat Bakteri SM4 berdasarkan Gen *16s rRNA* (*Identification results of SM4 bacterial isolates based on the 16s rRNA gene*).

Accesion (*Pencapaian*)	**Deskripsi** (*Description*)	**Max Score** (*Skor Maks*)	**Total score** (*Skor Total*)	**Cove Rage** (*Pencakupan*)	**e value** (*Nilai e*)	**Identitas %** (*Identity*) (%)
nr_074540.1	*Basillus Cereus*	1481	1483	98	0	99



Gambar 4. Pohon filogenetik isolat bakteri SM4 (*SM4 Bacterial isolate phylogenetic tree*).

Tabel 4. Uji Antagonis Isolat Bakteri SM4 Terhadap Bakteri Patogen *Escherecia coli dan Staphylococus aureus* pada media PCA (*SM4 Bacterial isolate Antagonist Test Against Pathogenic Bacteria Escherecia coli and Staphylococus aureus on PCA media*).

Uji antagonis Isolat bakteri SM4 (*SM4 bacterial isolate antagonist test*).

Kode (*Code*)		**Pengulangan** (*repetition*)	**Diameter zona hambat (mm)** *(Inhibition zone diameter) (mm)*
Isolat (*Isolate*)	**Bakteri uji** (*Test Bacteria*)		
SM4	*E. coli*	1	0,84
		2	1,10
		rata-rata	0,97
	S. aureus	1	1,77
		2	1,88
		rata-rata	1,825

PEMBAHASAN

Karakterisasi Isolat Bakteri SM4

Banyak species bakteri yang berasosiasi dengan spons. Bakteri SM4 memiliki ciri-ciri yang mirip dengan bakteri yang telah di deskripsikan sebelumnya. Menurut (Effendi, 2019) bakteri yang berasosiasi dengan spons *Stylissa massa* mereka temukan memiliki karakter morfologi dengan memperelihatkan bentuk koloni *rhizoid, circular*, dengan tepi koloni *filamentous,* dan *entire.* Hasil penelitian (Pahriyani *et al., 2020)* menemukan isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons memiliki karakter morfologi dengan memperlihatkan warna koloni orange, kuning dan putih, bentuk koloni bundar, tepi koloni licin, tak beraturan dan berlekuk dengan elevasi koloni cembung.

Pada pengujian biokimia dilakukan dengan dua metode uji yaitu uji Sitrat dan uji TSIA. Uji sitrat menunjukan hasil yang positif dimana terjadi perubahan jenis media dari warna hijau menjadi biru. Menurut (Huda, 2012) jika suatu bakteri mampu menguraikan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari media biakan, sehingga menyebabkan perubahan warna media dari warna hijau menjadi biru. Uji TSIA menunjukan nilai

posistif ditandai dengan adanya warna kuning pada media. Hasil penelitian (Sari *et al*., 2019), jika bakteri mememilki kemampuan dalam mendegradasi dan memfermentasi karbohidrat yang disertai produksi asam, ditandai dengan adanya perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning pada bagian but dan slant media.

Uji Antagonis Isolat Bakteri SM4 Terhadap Bakteri Patogen

Uji antagonis dilakukan untuk menguji potensi bakteri isolat SM4 terhadap bakteri patogen serta melihat aktivitas antibakteri dari isolat bakteri SM4 dengan melihat dan mengukur zona hambat yang terbentuk. Hasil uji antagonis dari isolat bakteri SM4 memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Adanya zona bening di sekitar koloni bakteri menunjukan bahwa isolat bakteri SM4 memilki aktivitas antibakteri dari terhadap bakteri uji. (Gambar 3) Menurut (Abubakar *et al.,* 2011) mengatakan bahwa beberapa bakteri yang berasosiasi dengan spons ada yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *E coli* dan *S aureus,* hal ini sependapat dengan (Sunny *et al.,* 2016) yang memperoleh 2 isolat yang potensial sebagai antimikroba yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S aureus*, dengan masing-masing diameter zona hambat 1,5 mm dan 2,6 mm.

.

Ekstaksi Senyawa Bioaktif Dari Isolat SM4 dan Pengujiannya Terhadap Bakteri Patogen

Pengujian aktivitas senyawa bioaktif dari ekstrak isolat SM4 menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan adanya zona bening (Gambar 2). Hasil penelitian (Cita *et al.*, 2016), diperoleh hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat sebesar 2,34 ± 0,95 cm dan 1,963 ± 0,35 cm. Hal yang sama diperoleh dari penelitian yang dilakukan Samirudin *et al*, (2018) yang menemukan isolat bakteri yang memproduksi senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat sebesar 5,43 mm terhadap *E. coli* dan 3,41 mm terhadap *S. aureus.*

Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan isolat bakteri SM4 menunjukkan adanya peningkatan pertumbuhan jumlah koloni dari setiap fase yang diamati (Gambar 3). Kurva pertumbuhan isolat SM4 diketahui fase adaptasi (lag) memiliki waktu yang relatif singkat yaitu 0–4 jam. Panjang atau pendeknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologi dan morfologi yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan (Sharah *et al.*, 2015).

Pada waktu 8–60 jam terjadi fase logaritma (Gambar 3) yang dicirikan adanya peningkatan jumlah populasi atau pertumbuhan pada sel-selnya yang nampak di permukaan media tanam. Hasil penelitian (Sharah *et al.*, 2015) mengatakan, fase logaritma merupakan suatu fase dimana sel mampu membelah diri dengan cepat, memiliki aktivitas metabolisme konstan, serta memiliki keadaan pertumbuhan yang seimbang.

Pada waktu 60–68 jam sel mengalami fase stasioner. Pada fase ini bakteri mengalami laju pertumbuhan yang konstan antara bakteri yang hidup dan yang mati, hal ini disebabkan berkurangnya nutrisi pada media. Menurut (Farida, 2020) pada fase stasioner, bakteri mulai kekurangan nutrisi sehingga bakteri tersebut berusaha untuk mempertahankan hidupnya, dengan cara memproduksi suatu senyawa metabolit sekunder sehingga dapat menghambat atau membasmi pertumbuhan bakteri lain.

Pada waktu 72 jam menunjukan bahwa bakteri mulai memasuki fase kematian. Fase kematian umumnya disebabkan karena adanya kekurangan nutrisi di dalam suatu media. Menurut (Sharah *et al.,* 2015) pada fase kematian, sel yang mati menjadi lebih banyak. Lama fase kematian ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan,kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan.

Identifikasi Isolat Bakteri SM4 Berdasarkan 16s rRNA

Bacillus cereus adalah bakteri pembentuk spora yang tergolong ke dalam famili *Bacillaceae.* Bakteri ini bersifat aerobik sampai anaerobic fakultatif, katalase positif dan merupakan bakteri gram positif berbentuk batang (Gita *et al.*, 2019). Menurut (Susana, 2017) bakteri *B. cereus* memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri patogen. Kemampuan ini diduga karena bakteri *B. cereus* menghasilkan senyawa antimikroba. Hasil penelitian (Xiu *et al.,* 2017) menemukan senyawa antimikroba yang di hasil dari bakteri *Bacillus* cereus berupa senyawa *Pumilacidi, flavonoid, dan steroid.*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil karakterisasi isolat SM4 secara makroskopik memiliki warna koloni kuning, bentuk koloni bulat, Tepian isolat rata, elevasi koloni datar, dan ukuran koloni kecil dan secara biokimia memiliki hasil positif uji sitrat dan TSIA. Pengujian aktivitas senyawa bioaktif dari isolat tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia colli.* Hasil identifikasi molekuler terhadap gen *16S rRNA* menunjukkan bahwa isolat SM4 memiliki tingkat kemiripan sebesar 99% dengan bakteri *Bacillus*

cereus NR_074540.1.

DAFTAR PUSTAKA

Abubakar, H., Wahyudi, A.T. dan Yuhana, M., 2011. Skrining bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. sebagai penghasil senyawa antimikroba. *Jurnal Ilmu Kelautan 16*(1): 35–40.

Badan Pusat Statistik (BPS)., 2018. Provinsi Nusa Tenggara Timur: Keanekaragaman biota laut dalam angka tahunan.

Cita, Y.P., Radjasa, O.K. dan Sudharmono, P., 2016. Aktivitas antibakteri isolat bakteri X2 yang berasosiasi spons *Xestospongia testudinaria* dari pantai pasir putih Situbondo terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian .14*(2): 206–211.

Gita, W., Sri, S. dan Agus, T., 2019. Aktivitas antagonis bakteri yang berasosiasi dengan teritip (*Balanus* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Di ponegoro. *Jurnal Kelautan Tropis* 22(1):49–56.

Huda, C., Salni. dan Melki., 2012. Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak ratulangi. Journal Tanjungpura Pontianak. *Jurnal Urnal Labora Medika*. *2*(3): 29–35.

Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J., and Wade, W.G., 1998. Design and evaluation of useful bacterium specific PCR primer that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied Environmental Microbiology*. *64*: 795–799.

Marinho, P.R., Paula, A., Moreira, B., Lúcia, F., Costa, P. and Muricy, G., 2009. Marine *Pseudomonas putida*: a potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*., 104: 678–682.

Marzuki, I., Noor, Nafie, L. and Djide, N., 2015. Isolation and identifications bacterium symbionts of sponge as producer enzyme amylase from Melawai Beach of Balikpapan. Departement Of Chemistry, Faculty of Sciances, University of Hasanuddin, Makassar. *Jurnal Ilmiah*. *1*(2): 11–18.

Nofiani, R., Nurbetty, S. dan Sapar. A., 2009. *Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan Kalimantan Barat*. Universitas Tanjung Pura: Pontianak.

Pahriyani, A. dan Wardani, E., 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri simbion dari spons laut yang berpotensi sebagai antimikroba. Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhamadiyah Prof Dr Hamka. laporan penelitian.

Samirudin, Shaiful, A., Aswan, A. dan Nur, A.Y., 2018. Screening bakteri yang bersimbiosis dengan spons jenis *Petrosia* sp sebagai penghasil antibakteri dari perairan Taman Nasional Wakatobi. Universitas Halu Oleo. *Jurnal Biowallacea*. *5*(1): 708–715.

Sari, D.P., Rahmawa, Sari, D.P., Rahmawati. dan Elvi, R.P.W., 2019. Deteksi dan identifikasi genera bakteri coliform hasil isolasi dari minuman lidah buaya. Universitas Sriwijaya, Indralaya. *Maspari Journal*. *4*(1), 69–76.

Sharah, A., Rahman, K. dan Desmelati., 2019. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat yang di isolasi dari ikan peda kembung (*Rastrelliger* sp.). Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau. *Jurnal Kelautan*. *2* (1): 34–43.

Suparno., 2005. Kajian bioaktif spons laut (Forifera: *Demospongiae*). Suatu peluang alternatif pemanfaatan ekosistem karang Indonesia dalam dibidang farmasi. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. *jurnal kelautan*. *3*(2): 65–74.

Susana, M., 2017. Isolasi dan karakterisasi bakteri heterotrofik pada perairan laut kawasan pemukiman dan perairan bersalinitas rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru.

Sunny, F., Kurniati, T.H., Hatmanti. dan Ariani., 2016. Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil senyawa antibakteri yang berasosiasi dengan karang batu dari Perairan Bitung dan Spons dari Selat Makasar. *Bioma journal*. *12*(1): 42–49.

Xiu, P., Liu, R., Zhang, D. and Sun, C., 2017. Pumilacidin like lipopeptides derived from marine bacterium *Bacillus* sp. Strain 176 suppress the motility of *Vibrio alginolyticus*. *Journal Environ Microbiol*. *83*(12): 1–14.