

Penggunaan Bakteri Heterotrofik Sebagai Anti Bakteri Terhadap Bakteri Patogen yang diisolasi dari Perairan Laut Kota Dumai, Provinsi Riau

By:

Dewi Sujani Adithiya¹⁾, Feliatra²⁾, Afrizal Tanjung²⁾

Email : Dewisihite01@Gmail.com

ABSTRAK

Bakteri heterotrof memiliki peran sebagai pengurai senyawa organik (mineralisasi) dan nitrogen anorganik (ammonia, nitrit, dan nitrat) yang berasal dari limbah industri, dekomposisi pakan tak termakan (*uneaten feed*), feses ekskresi ikan, dan memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2016. Hasil penelitian Uji antagonism menunjukkan isolat bakteri memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.), zona hambat pada isolat D5, D6 dan D4 tergolong dalam kategori kuat dengan rata-rata zona hambat 10,5 – 11,8 mm dan zona hambat pada isolat D1, D2, D3, D5, D7 tergolong dalam kategori sedang dengan rata-rata zona hambat 5,3 – 8,5 mm dan masing-masing dari isolat bakteri juga tergolong dalam kategori lemah. Hasil analisis DNA bakteri heterotrofik yang diisolasi dari perairan laut kawasan Industri dan perairan estuari bersalinitas rendah dengan menggunakan Metode PCR teknik sekuens 16S rRNA ditemukan 3 jenis bakteri dari tingkat homologi yang tertinggi yakni *Bacillus toyonensis*, *Bacillus cereus* dan *Bacillus pseudomycooides*. Isolat D1 memiliki kesamaan terhadap *Bacillus cereus* strain ASK16, isolat D2 terhadap *Bacillus toyonensis* strain A C, OPR1150Xg isolat D3 terhadap *Bacillus pseudomycooides* strain F1-8, isolat D4 terhadap *Bacillus cereus* strain SBFW51, isolat D5 terhadap *Bacillus cereus* strain OPP5 3-2, isolat D6 *Bacillus cereus* strain SBFW5S, isolat D7 terhadap *Bacillus cereus* strain B4. Sebagian besar isolat bakteri diperoleh dari perairan kawasan industri karena pada kawasan industri merupakan perairan yang banyak menerima pasokan unsur hara yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri.

Kata Kunci : Bakteri Heterotrofik, Antagonisme, Sekuens 16S rRNA

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru

Using of Bacteria Heterotrophic as an Anti-Bacterial Againsts Pathogenic Bacteria Isolated from Sea Water in Dumai City , Riau Province

By:

Dewi Sujani Adithiya ¹⁾, Feliatra ²⁾, Afrizal Tanjung ²⁾

Email : Dewisihite01@Gmail.com

ABSTRACT

Heterotrophic bacteria have a role as decomposer of organic compounds (mineralization) and inorganic nitrogen (ammonia, nitrite, and nitrate) derived from industrial waste, decomposition of uneaten feed, faecal, excretion of fish and have the ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria. This research was conducted in November until December 2016. The results of antagonism test showed isolated bacteria have the ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp.) Zone of inhibition in D5, D6 and D4 isolates classified in the strong category with zone of inhibition average of 10.5 to 11.8 mm and zone of inhibition in D1, D2, D3, D5, D7 isolates classified in the medium category with zone of inhibition average of 5.3 to 8.5 mm and each of the isolates are also classified in the weak category. The results of DNA analysis of heterotrophic bacteria isolated from marine waters of industrial area and low salinity of estuarine waters by using the PCR method technique 16S sequences found three strains of bacteria from the highest level of homology *Bacillus toyonensis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus pseudomycooides*. D1 isolates has similarity to *Bacillus cereus* strain ASK16, D2 isolates to *Bacillus toyonensis* strain AC OPR1150Xg, D3 isolates to *Bacillus pseudomycooides* strain F1-8, D4 isolates to *Bacillus cereus* strain SBFW51, D5 isolates to *Bacillus cereus* strain OPP5 3-2, D6 to *Bacillus cereus* strain SBFW5S, D7 isolates to *Bacillus cereus* strain B4. Most of isolated bacteria obtained from the waters of industrial area because it receives much of nutrients that are very influential in the growth of bacteria.

Kata Kunci : Bakteri Heterotrofik, Antagonisme, Sekuens 16S rRNA

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan kelautan Universitas Riau, Pekanbaru

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan kelautan Universitas Riau, Pekanbaru

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Perairan laut Dumai merupakan salah satu perairan di Sumatera yang padat dengan aktivitas pelayaran dan industri di sekitar pesisir pantainya serta aktivitas dari pemukiman penduduk dianggap sebagai penyumbang bahan organik maupun anorganik yang cukup besar dan mengakibatkan terjadinya pencemaran di perairan muara Sungai . Beragam proses-proses fisik, aktivitas industri dan antropogenik serta transportasi laut (Santos *et al.*, 2013), memberikan kontribusi pada konsentrasi senyawa organik dan anorganik yang mempengaruhi distribusi serta aktivitas bakteri.

Di lingkungan perairan tersebut, keterlibatan mikroorganisme jelas tidak dapat diabaikan (Feliatra, 2011). bakteri heterotrofik memiliki peran sebagai perombak dan mampu remineralisasi bahan-bahan organik menjadi komponen anorganik sederhana yang dikembalikan ke dalam tanah dan atmosfer sebagai hara. Keberadaan mikroorganisme tersebut ada yang bermanfaat bagi

kehidupan manusia, tetapi banyak pula yang merugikan manusia misalnya dapat menimbulkan berbagai penyakit atau bahkan dapat menimbulkan kerusakan akibat kontaminasi. Menurut Feliatra *et al.*, (2012) kehadiran jenis bakteri patogen seperti *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., dan *Pseudomonas* sp. akan menyebabkan penyakit pada ikan budidaya sehingga perlu diantisipasi untuk pencegahannya. Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk mencegah bakteri patogen yang menginfeksi ikan yaitu dengan menggunakan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tanaman, hewan atau dihasilkan oleh mikroba yang umumnya dikenal dengan istilah biopreservatif

Untuk mempelajari keanekaragaman mikroorganisme tersebut, telah banyak dikembangkan teknik/metode yang akurat. Metode terbaik untuk menentukan taksonomi suatu mikroorganisme saat ini adalah metode polifasik yaitu metode yang menggunakan hubungan kekerabatan DNA (genotip) dan karakterisasi fenotip dalam mengklasifikasi

mikroorganisme. teknik ini dilakukan dengan menganalisa struktur atau susunan basa nukleotida DNA yang terdapat didaerah 16rRNA. Dengan latar tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Penggunaan Bakteri Heterotrofik sebagai Anti Bakteri terhadap Bakteri Patogen yang diisolasi dari Perairan Laut Kota Dumai, Provinsi Riau

Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitasnya terhadap bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp), dan apa saja jenis bakteri heterotrofik memiliki kemampuan sebagai antibakteri?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan identifikasi DNA spesies bakteri yang terdapat di perairan kawasan industri dan perairan estuari bersalinitas rendah kota Dumai Provinsi Riau. Adapun manfaat dari penelitian ini yakni dapat menjadi sumber informasi ilmiah bagi publik mengenai bakteri jenis bakteri heterotrofik yang memiliki potensi sebaga anti bakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan November sampai bulan Desember 2016. Pengambilan sampel dilakukan di perairan laut kawasan industri dan perairan bersalinitas rendah kota dumai, Provinsi Riau. Kegiatan analisis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan. Identifikasi DNA dilakukan di Laboratorium Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, sedangkan untuk Purifikasi dan Sekuensing dilakukan oleh pihak *Firsth Base* Malaysia yang dikirim oleh PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta Barat.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode survei. Dimana air laut dari perairan Kota Dumai digunakan sebagai sampel untuk mengidentifikasi bakteri heterotrof, serta metode ekperimen

dimana dilakukan uji antagonisme pada 3 bakteri patogen yang berbeda.

Data yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi isolat bakteri dan uji aktifitasnya terhadap bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.) disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Pada analisis DNA metode PCR sekuens 16S rRNA dianalisis menggunakan teknik BLAST melalui *website* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, paket program *Bioedit*, *Clustal W* dan *Mega.06*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Kualitas Air

Proses pengambilan sampel dilakukan pada 2 stasiun dengan masing masing stasiun diambil pada 3 titik *sampling* dengan jarak 50 m. dan dilakukan pengukuran kualitas air untuk mengetahui kondisi lingkungan stasiun pada saat pengambilan sampel. hasil pengukuran kualitas air, sampel diambil pada siang hari dengan pH perairan berkisar antara 6-7. Dengan salinitas perairan pada stasiun 1 sebesar 10 ‰, dan pada stasiun 2

berkisar antara 20-25‰. Dengan suhu 27-30°C. kuat arus berkisar antara 6,8-18,45 m/s.

Isolasi Bakteri

Dari hasil kultur dan pemurnian secara berulang ulang maka di peroleh tujuh isolat bakteri yang berbeda berdasarkan pengamatan morfologi dari masing masing koloni bakteri yakni ; D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7

Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui aktivitas biokimia dari masing-masing isolat bakteri. Pada penelitian ini dilakukan 9 uji aktivitas biokimia diantaranya uji pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas, uji sulfida, uji TSIA, uji penggunaan gula, uji sitrat dan uji methyl red .

Dari hasil identifikasi koloni dan uji biokimia isolat D1 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut : bentuk koloni bundar, sel berbentuk batang, warna putih kekuningan, bersifat gram negatif, in motil, dan tidak dapat membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat D2 memiliki ciri ciri morfologi sebagai berikut : bentuk koloni berbentuk L, sel berbentuk batang, warna putih, bersifat Gram positif, in motil, dan tidak dapat membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat D3 memiliki ciri ciri morfologi bentuk koloni tak beraturan, sel berbentuk batang, warna putih, bersifat Gram positif, in motil, dan tidak dapat membentuk indol, hanya mampu memfermentasi glukosa.

Isolat D4 memiliki ciri ciri morfologi bentuk koloni berbentuk L dan kompleks, bentuk sel bulat, warna putih, bersifat gram positif, motil, dan tidak membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat D5 memiliki ciri ciri morfologi bentuk koloni bundar dan tepian timbul, bentuk sel batang, bersifat gram positif, in motil dan tidak dapat membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat D6 memiliki ciri ciri morfologi bentuk berbentuk L, sel

berbentuk batang, warna putih, bersifat gram positif, motil, dan tidak dapat membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat D7 memiliki ciri ciri morfologi berbenang, warna putih kekuningan, bersifat gram positif, in motil, dan tidak dapat membentuk indol, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Antagonisme Isolat Bakteri

Hasil yang diperoleh pada Uji antagonis dilakukan sebanyak 3 kali Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 7. Masing masing isolat bakteri memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram (Gambar 2).



Gambar 1 : hasil Uji antagonis, luas zona bening isolat bakteri heterotrofik.

Dari hasil uji diperoleh isolat D4, D5 dan D6 memiliki daya hambat tergolong dalam kategori kuat terhadap bakteri *V. alginolyticus*. Isolat bakteri yang tergolong sedang yakni isolat D1 terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. Isolat D2 terhadap bakteri *V. alginolyticus*, isolat D3 terhadap bakteri *V. alginolyticus* dan *Pseudomonas* sp. Isolat D5 terhadap bakteri *A. hydrophila*. Isolat D6 dan D7 terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dan seluruh isolat juga termasuk kategori lemah pada masing-masing bakteri patogen yang berbeda.

Hasil yang berbeda disebabkan oleh kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda-beda bergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya.

Menurut Melki *et al.*, (2010) dalam penelitiannya terdapat perbedaan komposisi dan struktur dinding sel pada setiap bakteri. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam presentasi lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri gram positif.

Senyawa antimikroba yang menyerang bakteri akan merusak dinding selnya atau mencegah sintesisnya, Dinding sel yang rusak akan menimbulkan plasmolisis. Jika protoplas ini diletakkan pada lingkungan dengan tekanan osmotik tertentu, mereka akan mengambil cairan dengan cepat, mengembang dan pecah. Jika fungsi integritas ini rusak maka makromolekul dan ion keluar dari sel kemudian terjadi sel lisis bahkan terjadi kematian. Membran sitoplasma dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen antimikroba yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen (Jawetz *et al.*, 2005)

Tabel 7. Hasil Uji Antagonisme isolat bakteri terhadap bakteri patogen

BAKTERI UJI	Diameter zona hambat (mm)														
	<i>V. alginolyticus</i>					<i>A. hydrophila</i>					<i>Pseudomonas sp.</i>				
	(+)	U ₁	U ₂	U ₃	R(mm)	(+)	U ₁	U ₂	U ₃	R(mm)	(+)	U ₁	U ₂	U ₃	R(mm)
D1	4	2	2	1	1,6	1,5	1	3	4	2,6	8	1	9	12,5	7,5
D2	1,5	8	9,5	8	8,5	3	4,5	3,5	3	3,6	6,5	1	3	1,5	1,8
D3	8	6,5	8	4,5	6,3	2	2	2	1,5	1,8	5,5	5	5	6,5	5,5
D4	5,5	3,5	15	13	10,5	5	2	3	3	2,6	6	3	2,5	3	2,8
D5	2	10	12,5	13	11,8	6	6	6	5,5	5,8	7	3	3	6,5	4,1
D6	5,5	4	13	17	11,3	6	2	3,5	3,5	3	3	5	5,5	5,5	5,3
D7	3	6	6	0,5	4,1	5	0	2	3	2,5	6	1	11	7	6,3

Sumber : data primer (2017)

*Hasil diatas sudah dikurangi diameter *paper disc* 6mm,

Keterangan = (+) : kontrol positif

U₁ : ulangan ke-1

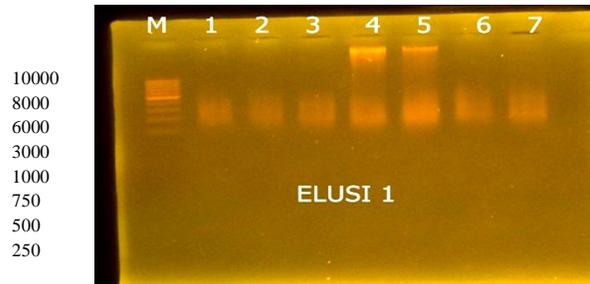
U₂ : ulangan ke-2

U₃ : ulangan ke-3

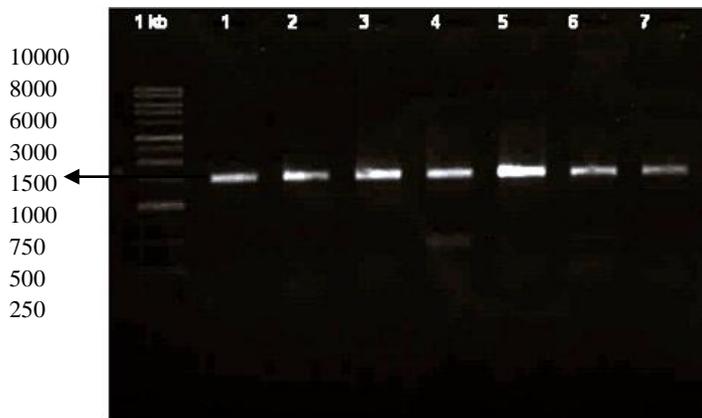
R(mm): rata-rata dalam satuan milimeter

Hasil ekstraksi DNA Total

Hasil ekstraksi DNA Total di elektroforesis dengan menggunakan Gel Agarose 1,2 % dan larutan TBE 1x untuk menunjukkan DNA kromosomal yang telah dimurnikan. Hasil elektroforesis DNA Total ditunjukkan pada gambar 2. dan hasil elektroforesis DNA produk PCR ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 2. Hasil Elektroforesis DNA Total isolat Bakteri dengan konsentrasi agarose 1,2% , marker DNA 1kb ladder.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis Produk PCR

Keterangan :

Condition: 1 % agarose gel

Volume sampel yang dimuat 1uL

Marker DNA : 1kb DNA Ladder (bp)

1 : Isolot D1

2 : Isolot D2

3 : Isolot D3

4 : Isolot D4

5: Isolot D5

6: Isolot D6

7: isolate D7

Dari hasil elektroforesis dapat dilihat pada (gambar 4) besarnya ukuran PCR yang dihasilkan adalah sekitar 1500 bp , besarnya ukuran ini sesuai dengan yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA bakteri. Sabdono *dalam* Erlangga (2014), menyatakan bahwa Amplifikasi isolate bakteri

yang memiliki pita tunggal menunjukkan bahwa primer yang digunakan adalah primer spesifik untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA pada bakteri. Amplifikasi 16S rRNA telah menjadi standar untuk mempelajari filogenetik dan keanekaragaman dari mikroorganisme laut.

Sekuensing DNA

Sekuensing merupakan proses mengurutkan basa nitrogen dengan menggunakan mesin. Sekuensing isolat menggunakan primer 24F dan 1541R, dilakukan satu arah sebanyak satu kali pada setiap primer yang digunakan dengan siklus bolak balik.

Bentuk dari hasil sekuensing masing masing isolat dalam bentuk elektroforegram dengan siklus yang terpisah (*forward* dan *reverse*).

Analisis BLAST

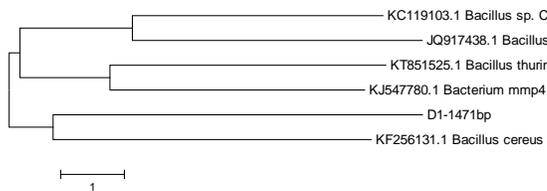
Sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> untuk mencari nama spesies, presentase homologi DNA hasil sekues dengan basis data yang sudah ada di *GenBank*. Hasil identifikasi masing masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dengan homologi tertinggi yang mempunyai kekerabatan terdekat dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Galur yang diakses dari database GenBank yang digunakan untuk menentukan hubungan kekerabatan secara filogenetik terhadap isolat bakteri.

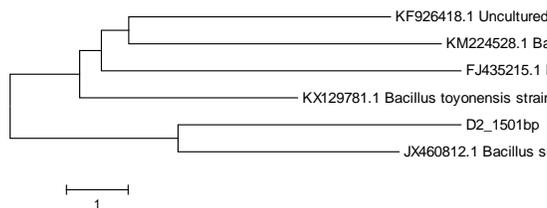
Isolat	Spesies	Strain	Kode Akses	Homologi
D1	<i>Bacillus cereus</i>	ASK16	KY750685	97%
D2	<i>B. toyonensis</i>	ACOPR1150Xg	KY750686	96%
D3	<i>B. pseudomycooides</i>	FI-8	KY750687	94%
D4	<i>B. cereus</i>	SBFW51	KY750688	96%
D5	<i>B. cereus</i>	OPP5 3-2	KY750689	97%
D6	<i>B.cereus</i>	SBFW5S	KY750690	96%
D7	<i>B. cereus</i>	B4	KY750691	97%

sumber : BLAST

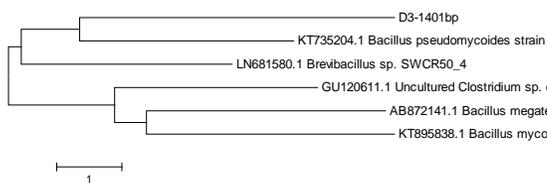
Dari hasil analisis blast dibuat Pohon filogenetik (*Phylogenetic trees*) percabangan yang menghubungkan titik (nodes), yang merupakan unit taksonomi, seperti spesies atau gen; akar pohon merupakan titik yang bertindak sebagai tetua (nenek moyang) untuk seluruh organisme yang sedang dianalisis (Pramana dalam Sazali, 2008). *Alignment* sekuens sampel dengan sekuens dari data base Gen Bank dilakukan menggunakan program Mega 0.6 dan Clustal W. (Gambar 4,5,6,7,8,9,10)



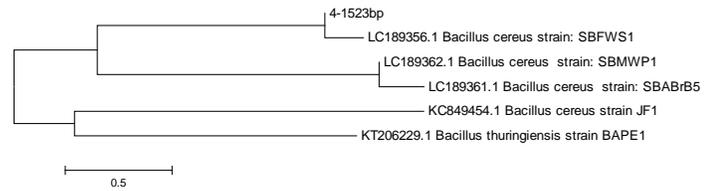
Gambar 4. Pohon filogenetik isolat D1



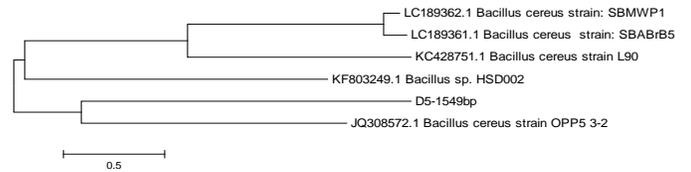
Gambar 5. Pohon filogenetik isolat D2



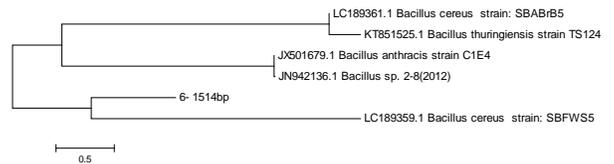
Gambar 6. Pohon filogenetik isolat D3



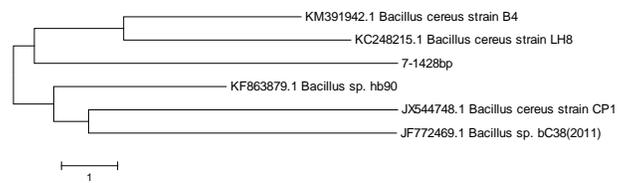
Gambar 7. Pohon filogenetik isolat D4



Gambar 8. Pohon filogenetik isolat D5



Gambar 9. Pohon filogenetik isolat D6



Gambar 10. Pohon filogenetik isolat D7

Analisis Sekuens

Dari hasil analisis sekuens (tabel 8) isolat bakteri yang sudah diblast dibandingkan dengan beberapa jenis bakteri lain, ada beberapa bakteri pembanding dari hasil BLAST dengan tingkat yang lebih tinggi seperti hasil

filogenetik (lampiran 8) ada kemungkinan hubungan kekerabatan masing masing isolat seperti isolat D1 memiliki nilai homologi sebesar 97% terhadap *Bacillus cereus* strain ASK16, isolat D2 memiliki nilai homologi sebesar 96% terhadap *Bacillus toyonensis* strain A C, OPR1150Xg isolat D3 memiliki nilai homologi sebesar 94% terhadap *Bacillus pseudomycoides* strain F1-8, isolat D4 memiliki nilai homologi sebesar 97% terhadap *Bacillus cereus* strain SBFW51, isolat D5 memiliki nilai homologi sebesar 97% terhadap *Bacillus cereus* strain OPP5 3-2, isolat D6 memiliki nilai homologi sebesar 96% terhadap *Bacillus cereus* strain SBFW5S, isolat D7 memiliki nilai homologi sebesar 97% terhadap *Bacillus cereus* strain B4.

Dari hasil tersebut dapat diketahui ke tujuh jenis dari isolat bakteri heterotrofik yang diperoleh dari perairan laut Kota Dumai merupakan genus dari bakteri *Bacillus*. Bakteri dari Genus *bacillus* , *Bifidobacteri*, *Pseudomonas* , *Lactobacillus* dan *Micrococcus* telah terbukti sebagai bakteri yang

menguntungkan dan dapat hidup baik didalam maupun diluar tubuh normal organisme, dan diduga sebagai bakteri probiotik yang menguntungkan (Feliatra *et al.*, 2015). Yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang diketahui berdasarkan dengan hasil uji antagonime yang menunjukkan adanya zona bening di sekitaran cakram. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Suwardi (2012) Bakteri yang menghasilkan antimikroba adalah bakteri *Bacillus* sp. A1 dan A2. Karakteristik bakteri penghasil antimikroba dilakukan dengan menggunakan pengamatan morfologi, fisiologi dan analisis kandungan protein dengan SDS-PAGE. Hasil dari pengamatan morfologi yaitu koloni berbentuk bulat, warna koloni putih, ukuran koloni tidak begitu besar, memiliki permukaan cembung dan tepi yang rata. Dari pengecatan gram dan bakteri BA 1 dan BA 2 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk sel bakteri batang dan bersifat gram positif (berwarna ungu). Pada pengecatan spora bakteri BA 1 dan BA 2 memiliki

bentuk spora oval dan letak sporanya di tengah.

Dari tabel analisis BLAST sekuen 16S rDNA (Tabel 8) tingkat homologi masing masing isolat bakteri, terhadap sekuen dari database GenBank tidak ada yang mencapai 100% yang artinya tidak ada yang identik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2008) dari tabel homologi sekuen 16S rDNA dari masing masing isolat dengan sekuen 16S rDNA database GenBank dapat diketahui bahwa tidak ada sekuens 16S rDNA bakteri yang identik. Namun isolat yang memiliki persamaan sekuens 16S rDNA lebih besar dari 97% dapat mewakili spesies yang sama. Sedangkan persamaan sekuen antara 93-97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies (Hagstrom *et al.*, 2000)

Menurut Barbosa *et al.*, (2005) dan Agustina (2008). *Bacillus* mempunyai daya resisten terhadap anti mikroba dan dapat menghasilkan antimikroba, sehingga bakteri ini mampu bertahan di dalam saluran

pencernaan. *Bacillus* resisten terhadap eritromisin, linkomisin, sefalosporin, sikloserin, kloramfenikol, tetrasiklin, streptomisin dan neomisin. Antimikroba yang dihasilkan adalah bakteriosin. Seperti yang dikatakan Feliatra *et al.*, (2016) endospora yang di produksi *Bacillus* memiliki resistensi yang tinggi terhadap factor kimia dan fisika seperti suhu ekstrim, alcohol dan sebagainya. *Bacillus* mempunyai kemampuan mengontrol bakteri patogen dan menekan pertumbuhan bakteri lain melalui antibiotik yang dihasilkannya/ kompetisi dalam hal perebutan nutrisi dan ruang. Hal ini didukung dari hasil penelitian terakhir bahwa *Bacillus* berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri berupa lipopeptida yang disebut basitrasin yang dapat membunuh bakteri patogen. Menurut Jawetz *et al.*, (2005) *Bacillus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*

Menurut DOI dan McGLOUGHLIN (1992), dua sifat utama yang membedakan *Bacillus* dari bakteri lain ialah kemampuan bacillus untuk hidup aerob (walaupun beberapa sifat fakultatif anaerob) dan mayoritas jenisnya memproduksi katalase (bersifat katalase positif) hal ini sesuai dengan sifat biokimia isolat bakteri (Tabel 6). Endospora yang dihasilkan *Bacillus* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia, fisika seperti suhu ekstrim, alkohol dan sebagainya. Jenis jenis tersebut seluruhnya mengandung *Dipoclinic Acid (DPA)* dan memiliki derajat domansi unparalel pada bentuk kehidupan yang lain.

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif membentuk spora aerobik fakultatif yang berbentuk sel batang dan bakteri bacillus dapat dibedakan dari bakteri bacillus lain dengan melihat posisi sel dan uji biokimia serta mampu menghasilkan spora yang tahan terhadap panas (Badur, 2005). Seperti terlihat pada hasil Blast (tabel 8) beberapa Isolat memiliki kekerabatan dengan *Bacillus cereus*. *B. cereus* adalah salah satu

agensia patogen yang mempunyai potensi besar untuk digunakan sebagai pengendali hayati. Bakteri ini mempunyai inang yang spesifik, tidak berbahaya bagi musuh alami hama dan organisme non target lainnya, mudah terbiodegrasi oleh lingkungan serta dapat dinaikkan patogenitasnya dengan teknik rekayasa genetika (Khetan, 2001). *B. cereus* dapat tumbuh dengan baik pada media NA yang diinkubasi dengan suhu rata rata 28° C.

Berdasarkan penelitian Logan (2009), karakteristik bakteri *Bacillus pseudomycoides* sangat tertutup untuk anggota lain dari kelompok satu spesies seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* dan *Bacillus mycoides*. Namun tetapi pertimbangan dari karakteristik virulensi membantah langkah tersebut. *Pseudomycoides bacillus* hanya dapat dipisahkan dari *Bacillus mycoides* oleh keterkaitan DNA dan beberapa perbedaan dalam komposisi asam lemak.

Bacillus toyonensis adalah bakteri gram positif berbentuk batang, bakteri ini dapat membentuk cabang independen homogen dalam genus

Bacillus dan dapat membentuk spora. Berdasarkan penelitian Casanovas *et al.*, (2014), bakteri *Bacillus toyonensis* yang membentuk spora yang layak digunakan sebagai bahan aktif dari TOYOCERIN pakan aditif. Hal ini didukung dalam penelitian Jimenez *et al.*, (2013), yang menyatakan bahwa TOYOCERIN telah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri patogen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil Penelitian ini dapat diketahui, ketujuh isolat bakteri heterotrofik memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pada hasil uji antagonisme diperoleh zona hambat pada isolat D5, D6 dan D4 tergolong dalam kategori kuat, dan zona hambat pada isolat D1, D2, D3, D5, D7 tergolong dalam kategori sedang dan masing masing dari isolat bakteri juga tergolong dalam kategori lemah. Hasil analisis DNA dengan metode PCR 16S rRNA dan analisis BLAST menunjukkan hubungan kekerabatan masing masing isolat seperti isolat D1

merupakan kelompok dari *Bacillus cereus* strain ASK16, isolat D2 merupakan kelompok *Bacillus toyonensis* strain A C, OPR1150Xg isolat D3 merupakan kelompok *Bacillus pseudomycoides* strain F1-8, isolat D4 merupakan kelompok *Bacillus cereus* strain SBFW51, isolat D5 merupakan kelompok *Bacillus cereus* strain OPP5 3-2, isolat D6 merupakan kelompok *Bacillus* strain SBFW5S, isolat D7 merupakan kelompok *Bacillus cereus* strain B4. sebagian besar isolat bakteri diperoleh dari perairan kawasan industri karena pada kawasan industri merupakan perairan yang banyak menerima pasokan unsur hara yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri.

Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan agar adanya penelitian lanjutan untuk mengkultur isolat bakteri serta melakukan uji lanjut terhadap jenis patogen lain, juga uji kemampuan dan uji metabolit baik primer maupun sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, M.T., *et al.* 2005. Applied and Environmental Microbiology: Screening for Bacillus Isolates in The Broiler Gastrointestinal Tract. Vol 71. No. 2. American Society for Mikrobiologi. Amerika.
- Doi, Ray H. and Marlina McGloughlin 1992, Biology of Bacilli : Applications to industry, Butterworth-Heinemann, Boston, London, Oxford, Singapore, Sydney Toronto, Wellington : 370 pp.
- Feliatra, Titania.T, S. Silalahi. 2011. Skrining bakteri *Vibrio* sp. Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16s Ribosomal DNA Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis. vol.3
- Feliatra, Fitriana, Y. dan Nursyirwani. 2012. Antagonis Bakteri Probiotik Yang Diisolasi Dari Usus Dan Lambung Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes Altivelis*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 17,1 :16-25.
- Feliatra., Y. Dessy., L .Iesje., T.N. Titania dan H. Wahid. 2015. The Potential of The Isolated Probiotics Bacterial From Giant Prawns' Digestive Tract (Macrobrachium Rosenbergii, De Man) With 16s rDNA Sequencing Technique. *International Journal of Oceans and Oceanography*. Vol 9(1) 1-10.
- Feliatra, F. L .Iesje, Y. Dessy, R. Haqqy, M. Dessy ,H. Wahid, T.N. Titania, R.F. Andi, Y. Rofiza. 2016. Phylogenetic analysis to compare populations of acid tolerant bacteria isolated from the gastrointestinal tract of two different prawn species *Macrobrachium rosenbergii* and *Penaeus monodon*. *AACL Bioflux*. Volume 9(2) 360-368.
- Hagstrom.A., J.Pinhassi.,U.L. Weifel. 2000. Biogeographical Diversity Among Marine Bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology*.Vol .21:231-244
- Holt, et al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th Edition. USA: Williams and Wilkins Baltimore.
- Jawetz, E, J. melnick, et al., 2005. Jakarta: EGC Jawetz, melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran.
- Logan NA, De Vos P. 2009. Genus I. Bacillus in *Bergey's Manual*

- of Systematic Bacteriology
Vol 3. Springer New York. pp
21-128.
- Melki., W. Ayu ., Kurniati.2010. Uji
Antibakteri Ekstrak *Gracilaria*
sp (Rumput Laut) Terhadap
Bakteri *Escherichia coli* dan
Staphylococcus aureus .
Universitas Sriwijaya,
Indralaya-Indonesia
- Santos, L. M. P., Santos, A. L.,
Coelho, F. J. R. et al. 2013.
Heterotrophic activities of
neustonic and planktonic
bacterial communities in an
estuarine environment (Ria de
Aveiro) J. Plankton Res. (2014)
36(1): 230–242
- Sazali.S. 2008. Skrining Bakteri *Vibrio*
sp. Penyebab Penyakit Udang
Berbasis Teknik Sekuens 16s
rDNA.Skripsi. Fakultas
Perikanan dan Kelautan
Universitas Riau.
(Tidakditerbitkan).
- Subaryono.,R. Peranginangin.,M.T.
Suhartono.,Dan F.R.
Zakaria.2015. Isolasi dan
Identifikasi Bakteri Penghasil
Alginat Lyase dari Rumput
Laut *Sargassum Crassifolium*.
Fakultas Teknologi Pertanian
Ipb. Bogor
- Suwardi, C.N.E., Kusuma, H.
Nurhayati. 2012. Isolasi dan
Karakterisasi *Bacillus* sp.
Penghasil Antimikroba dari
Saluran Pencernaan Ayam
Kampung (*Gallus*
domesticus). Prosiding
SNSMAIP III-2012 306