

JURNAL

**ISOLASI DAN UJI ANTAGONISME BAKTERI HETEROTROFIK DARI
PERAIRAN MUARA SUNGAI SIAK DENGAN SALINITAS BERBEDA**

OLEH

SYAPUTRY LITA YANTI



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2018**

JURNAL

**ISOLASI DAN UJI ANTAGONISME BAKTERI HETEROTROFIK DARI
PERAIRAN MUARA SUNGAI SIAK DENGAN SALINITAS BERBEDA**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Melaksanakan Seminar Hasil
Pada Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau*

OLEH

**SYAPUTRY LITA YANTI
1304112556**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2018**

Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik dari Perairan Muara Sungai Siak dengan Salinitas Berbeda

Oleh:

Syaputry Lita Yanti ¹⁾, Feliatra ²⁾, Irwan Effendi ²⁾
Syaputrilitayanti91@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2017 di Perairan Muara Sungai Siak. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui populasi bakteri heterotrofik di Perairan Muara Sungai Siak dan antagonisme bakteri heterotrofik terhadap bakteri patogen (*Vibrio sp*, *Aeromonas sp* dan *Pseudomonas sp*), serta diidentifikasi secara fenotip dan genotip. Penelitian ini menggunakan metode survei, sampel air digunakan sebagai sampel untuk mengidentifikasi bakteri heterotrofik. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan serta Analisis DNA dilakukan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Hasil uji antagonisme dari 25 isolat bakteri didapatkan 10 isolat yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio sp*, *Pseudomonas sp* dan *Aeromonas sp*), pada bakteri *Vibrio sp* rata-rata zona bening terbesar adalah isolat 1P11 sebesar 20,3 mm dan terkecil adalah isolat 1P19 sebesar 5 mm, bakteri *Aeromonas sp* diameter zona bening yang terbesar adalah isolat 2P20 sebesar 9,3 mm dan terkecil isolat 1P12 sebesar 3,3 mm dan bakteri *Pseudomonas sp* zona bening terbesar adalah isolat 1P12 sebesar 17 mm dan terkecil adalah 1P11 dan 2P22 sebesar 8,3 mm. Hasil identifikasi molekuler dengan metode PCR 16S rRNA dan analisis BLAST menunjukkan 10 isolat bakteri heterotrofik memiliki kekerabatan dengan bakteri dari genus *Bacillus* yaitu, *Bacillus cereus* (1P11, 1P12, 1P14, 1P15, 1P19, 2P20, 2P21, 2P23), *Bacillus toyonensis* (2P22) dan *Virgibacillus salarius* (1P18).

Kata Kunci: Bakteri Heterotrofik, Isolasi, Uji Antagonisme, Identifikasi

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau.

Isolation And Heterotrophic Bacteria Antagonism Test From Estuary Of The Siak River with Different Salinity

By:

Syaputry Lita Yanti ¹⁾, Feliatra ²⁾, Irwan Effendi ²⁾

Syaputrilitayanti91@gmail.com

ABSTRACT

The research was conducted from July to September 2017 in Estuary of Siak River. The purpose of this research is to examine the population of heterotrophic bacteria in Estuary of Siak River, and heterotrophic bacteria antagonism against pathogenic bacteria (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp and *Pseudomonas* sp). And then identified by phenotype and genotype. This research use survey method. The samples analisis were conducted at the Marine Microbiology Laboratory of Marine Science Department of Fisheries and Marine Faculty and DNA analisis conducted at the Genetic Laboratory of Biology Department Mathematic and Natural Sciences. The result of antagonism test from 25 isolate heterotrophic bacterial was found 10 isolates which have ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp and *Pseudomonas* sp). From *Vibrio* sp bacteria the mean of clear zone is 1P11 isolate of 20,3 mm and the smallest is 1P19 isolate of 5 mm. *Aeromonas* sp bacteria the largest clear zone is 2P20 of 9,3 mm and the smallest is 1P12 isolate of 3,3 mm. *Pseudomonas* sp bacteria the largest clear zone is 1P12 isolate of 17 mm and the smallest is 1P11 and 2P22 isolate of 8,3 mm. the result of molecular identification using PCR 16S rRNA method and BLAST analisis showed 10 isolates of heterotrophic bacteria having kinship with bacteria of the genus *Bacillus* that is *Bacillus cereus* (1P11, 1P12, 1P14, 1P15, 1P19, 2P20, 2P21, 2P23), *Bacillus toyonensis* (2P22) and *Virgibacillus salarius* (1P18).

Keyword : Heterotrophic Bacteria, Isolation, Antagonism test, Identification

¹⁾ Student of The Faculty of Fisheries and Marine Sciences University of Riau

²⁾ Lecturer of The Faculty of Fisheries and Marine Sciences University of Riau

I.PENDAHULUAN

Perairan Sungai Siak merupakan salah satu perairan sungai terbesar di Riau yang memiliki peran yang sangat penting dalam mendukung aktivitas masyarakat dan industri di Riau. Berbagai aktivitas di sekitar Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak dapat menghasilkan berbagai macam bahan pencemar (limbah), baik organik maupun anorganik yang secara langsung maupun tidak langsung masuk ke perairan sungai dan terakumulasi di muara sungai. Keberadaan bahan pencemar tersebut menyebabkan penurunan kualitas perairan muara, karena adanya akumulasi bahan-bahan organik maupun anorganik yang dapat mempengaruhi distribusi dan aktivitas bakteri.

Menurut Palimirmo *et al.*, (2016) bakteri heterotrofik berfungsi sebagai dekomposer dan terkait erat dengan siklus hara terutama nitrat dan fosfat. Umumnya bakteri heterotrofik tergolong dalam bakteri pengurai yang berukuran halus, hidupnya singkat dan beregenerasi cepat. Bakteri ini tidak dapat berfotosintesis atau memakan partikel organik tetapi dengan enzimnya dapat memecah molekul organik yang kompleks menjadi satuan kecil yang mudah diserap dan diasimilasi. Oleh karena itu, bakteri pengurai ini memegang peranan penting dalam menjaga kelangsungan siklus hidup biota di laut.

Dalam kehidupan sehari-hari mikroorganisme memiliki manfaat. Tetapi banyak pula menyebabkan kerugian jika terkontaminasi oleh mikroorganisme. Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan molekuler. Metode konvensional dapat dilakukan berdasarkan pada karakteristik fenotip yaitu pewarnaan Gram, morfologi dan reaksi biokimia. Namun, metode identifikasi bakteri secara konvensional ini memiliki beberapa kelemahan. Metode ini tidak dapat digunakan untuk organisme yang belum teridentifikasi.

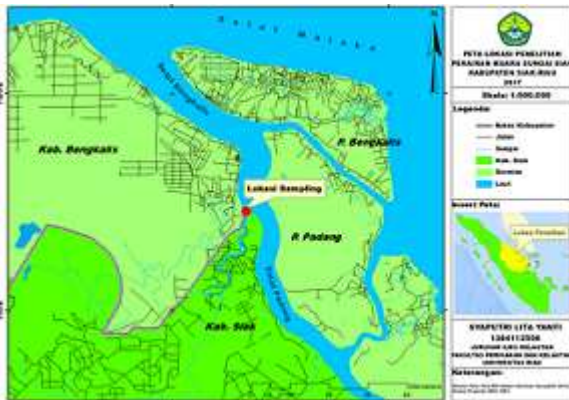
Metode deteksi yang banyak dikembangkan saat ini adalah metode deteksi secara molekuler melalui analisis DNA genom yang berbasis teknik PCR. Metode PCR telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi patogen. Melihat dari beberapa pertimbangan, metode ini dinilai lebih baik dibandingkan dengan metode yang lainnya. Menurut Suhandono *et al.*, (2011) dalam melakukan analisis komposisi gen dan keanekaragaman filogenetika suatu mikroorganisme, metode yang paling sering digunakan adalah menggunakan analisis sekuensing gen 16S rDNA karena gen tersebut bersifat lestari.

Dengan latar tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “ Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik dari Perairan Muara Kabupaten Siak Dengan Salinitas yang Berbeda”.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri heterotrofik di Perairan Muara Sungai Siak dan antagonisme bakteri heterotrofik terhadap bakteri patogen (*Vibrio sp*, *Aeromonas sp* dan *Pseudomonas sp*), serta Uji DNA spesies bakteri yang terdapat di perairan muara bersalinitas rendah di Perairan Muara Kabupaten Siak. Sedangkan manfaat dari penelitian ini yaitu menjadi sumber informasi tentang bakteri heterotrofik untuk penelitian selanjutnya.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2017 untuk pengambilan sampel dilakukan di Perairan Muara Sungai Siak, Provinsi Riau (Gambar 1). Kegiatan Analisis dilakukan di Laboratorium.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode survei dimana sampel dari perairan Muara Sungai Siak digunakan sebagai sampel untuk

mengidentifikasi bakteri heterotrofik serta dilakukan uji antagonisme pada 3 bakteri patogen yang berbeda (*Pseudomonas sp*, *Vibrio sp* dan *Aeromonas sp*).

Analisis Data

Analisis regresi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan hubungan parameter perairan terhadap pertumbuhan bakteri heterotrofik. Menurut Sudjana (2005), bentuk dan kekuatan hubungan dua variabel dengan persamaan korelasi sebagai berikut: $Y = a + bX$

Dimana :

Y = Parameter Perairan (Variabel Akibat)

X = Pertumbuhan Bakteri Heterotrofik (Variabel Faktor Penyebab)

a = konstanta

b = koefisien regresi (kemiringan);
besaran

Response yang ditimbulkan oleh *Predictor*. Menurut Sarwono (2006), kekuatan hubungan dua variable secara kualitatif dapat dibagi dalam empat area:

- $r = 0 >$ tidak ada korelasi
- $r = 0-0,25 >$ korelasi sangat lemah
- $r = 0,25-0,5 >$ korelasi cukup
- $r = 0,5-0,75 >$ korelasi kuat
- $r = 0,75-0,99 >$ korelasi sangat kuat
- $r = 1 >$ sempurna

Data yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi isolat bakteri dan uji aktifitasnya terhadap bakteri patogen disajikan dalam bentuk tabel

dan gambar. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif, didukung dengan studi literatur dan hasil-hasil penelitian terdahulu dan pada uji DNA hasil dianalisis menggunakan analisis BLAST yakni dilakukan dengan mengedit urutan DNA hasil sekuensing, urutan DNA di copy keprogram Notepad. Selanjutnya dilakukan penelusuran melalui website <http://www.ncbi.nih.nlm.gov/>. Data yang diperoleh dari hasil *sequence* dianalisis menggunakan teknik BLAST, paket program *Bioedit*, *Clustal W* dan *Mega.06*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Parameter Kualitas Perairan Stasiun Penelitian

No.	Parameter	Stasiun		Baku Mutu KEPMEN LH No. 51 Tahun 2004
		1	2	
1	Koordinat	N:1° 16'01" E:102° 12'01"	N: 1° 14' 20" E: 102° 10' 00"	-
2	Salinitas	25 ‰	20 ‰	Alami
3	pH	6,5	6	7-8,5
4	Suhu	29 °C	28 °C	28-30°C
5	DO (<i>Dissolved Oxygen</i>)	8 mg/l	5,45 mg/l	>5
6	Kecepatan Arus	0,35 m/det	0,4 m/det	-
7	Kecerahan	11 cm	2,5 cm	

Perhitungan Jumlah Bakteri Heterotrofik

Rata-rata jumlah bakteri heterotrofik pada stasiun 1 dan stasiun 2 di Perairan Muara Sungai Siak dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 jumlah bakteri heterotrofik pada stasiun 1 lebih tinggi dibandingkan pada stasiun 2. Hal

Pengukuran Kualitas Air

Pada penelitian ini pengukuran parameter kualitas perairan Muara Sungai Siak meliputi suhu, pH, salinitas, DO (*Dissolved Oxygen*), kecepatan arus dan kecerahan. Berdasarkan KEPMEN LH No. 51 Tahun 2004 hasil pengukuran kualitas air pada masing-masing stasiun masih dalam baku mutu yang ditentukan. Nilai suhu berkisar 29-28°C, pH 6,5-6 dan DO 5,45-8 mg/l, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

ini dapat dilihat nilai rata-rata pada masing-masing stasiun. Pada stasiun 1 nilai rata-rata jumlah bakteri heterotrofik $6,59 \times 10^6$ cfu/ml, sedangkan pada stasiun 2 yaitu $2,26 \times 10^6$ cfu/ml, hal ini dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya adalah faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri heterotrofik yaitu

oksigen terlarut. Oksigen terlarut dibutuhkan untuk oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik (Salmin, 2000). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Bakteri Heterotrofik pada Masing-Masing Stasiun

Stasiun	Rata-rata Jumlah Bakteri Heterotrofik cfu/ml
1	$6,59 \times 10^6$
2	$2,26 \times 10^6$

Keterangan: Rata-rata pengenceran 10^4

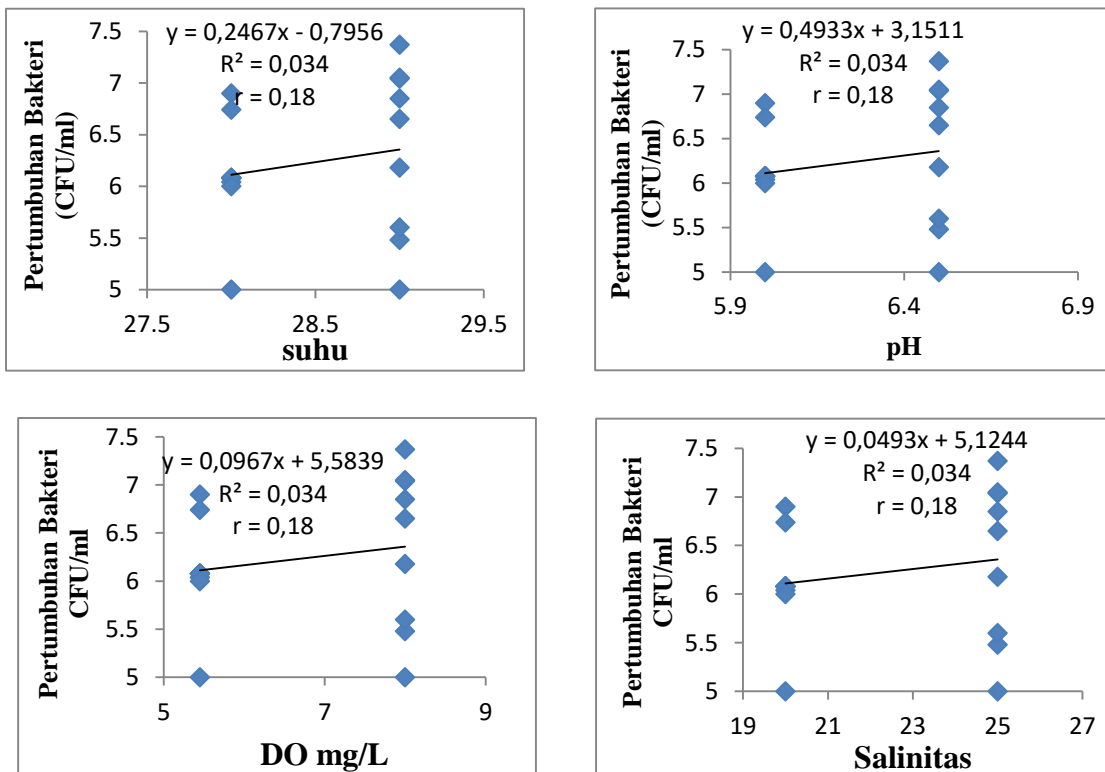
Selain itu aktivitas disekitar perairan juga dapat mempengaruhi jumlah bakteri heterotrofik pada masing-masing stasiun. Pada stasiun 1

pengaruh dari aktivitas disekitar perairan lebih besar seperti adanya pemukiman penduduk, industri kapal serta lalu-lalangnya transportasi laut yang kemudian dapat menghasilkan limbah pada perairan tersebut.

Hubungan Parameter Perairan dengan Pertumbuhan Bakteri Heterotrofik

Parameter perairan yang diukur kemudian dianalisis regresi dengan pertumbuhan bakteri heterotrofik. Hubungan parameter perairan dengan pertumbuhan bakteri heterotrofik disajikan dalam bentuk grafik, dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Hubungan Parameter dengan Pertumbuhan Bakteri Heterotrofik



Hasil uji regresi menunjukkan nilai koefisien korelasi (r) yang didapat yaitu korelasi positif dan termasuk kedalam kategori $r = 0,00-0,25$, maka kekuatan hubungan dua variabel menunjukkan hubungan sangat lemah. Hal ini sesuai dengan pendapat Sarwono (2006), apabila nilai $r = 0-0,25$, maka korelasi sangat lemah.

Pengamatan Morfologi Bakteri Heterotrofik

Pengamatan morfologi meliputi diameter koloni bakteri, warna, bentuk koloni, tepian dan elevasi. Berikut hasil pengamatan secara morfologi beberapa isolat bakteri yang ditemukan (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri.

No	Nama Isolat	Diameter (cm)	Warna	Bentuk Koloni	Tepian	Elevasi
1	1P11	2,7	Putih Kekuningan	Rizoid	Tidak beraturan	Berbukit
2	1P12	3	Putih Kekuningan	Kompleks	Berlekuk	Berbukit
3	1P14	5,5	Putih Kekuningan	Konsentris	Licin	Datar
4	1P15	0,5	Putih Kekuningan	Bundar	Licin	Datar
5	1P18	1	Putih Susu	Tidak Beraturan	Berombak	Datar
6	1P19	0,5	Putih Susu	Bundar	Tidak beraturan	Datar
7	2P20	2,5	Putih Susu	Bulat Tepian Timbul	Licin	Seperti Kawah
8	2P21	2,5	Putih	Tidak Beraturan dan Menyebar	Berlekuk	Datar
9	2P22	1,5	Putih	Bentuk L	Berombak	Timbul
10	2P23	0,3	Putih Kekuningan	Bundar	Licin	Timbul

Berdasarkan Tabel 3, diameter koloni sepuluh isolat berkisar antara 0,3-5,5 cm. 5 isolat memiliki warna putih kekuningan, 3 isolat berwarna putih susu dan 2 isolat berwarna putih. Isolat umumnya berbentuk tidak beraturan dan bundar, selain itu beberapa isolat berbentuk konsentris, rizoid dan bentuk L. Umumnya tepian koloni berlekuk serta elevasi datar.

Uji Biokimia Bakteri Heterotrofik

Setelah dilakukan pengamatan secara morfologi, kemudian dilakukan pengamatan secara biokimia terhadap isolat bakteri heterotrofik tersebut. Uji biokimia yang dilakukan yaitu pewarnaan Gram, uji katalase, motilitas, indol, H_2S , TSIA, citrat dan *Methyl red*. Berikut hasil uji biokimia dari beberapa isolat (Tabel 4). Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa 9 isolat termasuk bakteri Gram positif dan 1 isolat merupakan bakteri Gram negatif.

Hasil dari uji katalase dan motil ke-10 isolat merupakan bakteri katalase positif, citrat positif dan bersifat motil.

Hasil uji indol, sulfida dan *Methyl red* umumnya bersifat negatif (-). Berdasarkan hasil uji TSIA

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri Heterotrofik.

No	Nama Isolat	Katalase	Gram	Motilitas	Indol	H ² S	Uji TSIA			Citrat	MR
							G	L	S		
1	1P11	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
2	1P12	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-
3	1P14	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
4	1P15	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
5	1P18	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
6	1P19	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
7	2P20	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
8	2P21	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+
9	2P22	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
10	2P23	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: +: Uji bersifat Positif, - : Uji bersifat Negatif, G: Glukosa, L: Laktosa, S: Sukrosa

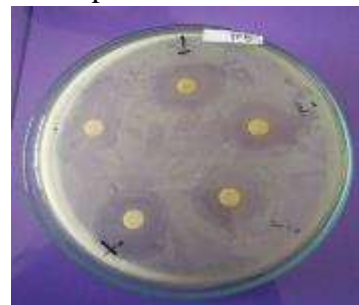
2 isolat mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa), 1 isolat hanya mampu memfermentasi glukosa, 2 isolat hanya mampu memfermentasi laktosa dan sukrosa, serta 5 isolat bakteri tidak mampu memfermentasi ketiga jenis gula.

Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik terhadap Bakteri Patogen

Hasil pengamatan uji antagonisme dari 25 isolat bakteri terhadap 3 bakteri patogen menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri mampu menghambat pertumbuhan dari ketiga bakteri patogen. Aktivitas antagonisme dari 25 isolat ditunjukkan dengan adanya zona bening pada sekitar cakram (Gambar 2). Kemudian diukur diameter zona

bening yang terbentuk dan dirata-ratakan.

Berdasarkan hasil rata-rata dari diameter zona bening yang terbentuk, didapatkan 10 isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp). Adapun hasil dari uji antagonisme 10 isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 5.



Gambar 2. Zona bening yang terbentuk disekitar cakram

Table 5. Pengamatan Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik

Nama Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)														
	<i>Vibrio</i> sp					<i>Aeromonas</i> sp					<i>Pseudomonas</i> sp				
	(+)	U1	U2	U3	R	(+)	U1	U2	U3	R	(+)	U1	U2	U3	R
1P11	9	18	23	20	20,3	8,5	8	4,6	3,1	5,2	6	5	8	12	8,3
1P12	4	15	9	9,5	11,1	14	3,3	2,4	4,1	3,3	8	20	15	16	17
1P14	5,5	13	12	14	13	2,8	7,5	7,8	5,5	6,9	6	12	9	15	12
1P15	6	11,5	18	15,5	15	5	7,1	6,9	8,6	7,5	5	11	13	22	15,3
1P18	4	9	11,5	8	9,5	2,2	6,1	7,8	6,6	6,8	4	7	6	16	9,6
1P19	6	6	5	4	5	13,4	11,7	6	2,3	6,7	6	16	16	13	15
2P20	18	14	10	13	12,3	9	7,4	8,2	12,3	9,3	4	15	8	5	9,3
2P21	6	15	15,5	17	15,9	6	8,4	6,6	6,5	7,2	5	16	14	15	15
2P22	6	10	7	8,5	8,5	4	5	6	9	6,7	6	9	7	9	8,3
2P23	6	17	11	17	15	4	6,3	6	5,2	5,8	6	13,5	12,5	9	11,7

Keterangan : (+): Kontrol Positif (Amoxan) , U1: ulangan ke-1, (-): Kontrol Negatif, (*Nutrient Broth*), U2: ulangan ke-2, U3: ulangan ke-3, R: Rata-rata zona bening.

Berdasarkan Table 5, dapat dilihat bahwa 10 isolat bakteri heterotrofik mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp) dengan ukuran zona bening yang beragam. Respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp menunjukkan bahwa Isolat 1P11 memiliki respon hambat yang tergolong sangat kuat dengan nilai rata-rata diameter zona bening 20,3 mm. Respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp tergolong kategori sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 5,2 mm dan 8,3 mm.

Isolat 1P12 memiliki respon hambat terhadap bakteri *Vibrio* sp dan *Pseudomonas* sp yang tergolong kategori kuat dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 11,1 mm dan 17 mm, sedangkan respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp tergolong kategori lemah yaitu 3,3 mm.

Isolat 1P14 memiliki respon hambat terhadap bakteri *Vibrio* sp dan *Pseudomonas* sp tergolong kategori kuat dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 13 mm dan 12 mm, sedangkan respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp tergolong kategori sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 6,9 mm.

Selanjutnya isolat 1P15 memiliki respon hambat dengan kategori kuat terhadap bakteri *Vibrio* sp, dan *Pseudomonas* sp dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 15 mm dan 15,3 mm, sedangkan respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp dikategorikan sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 7,5 mm.

Isolat 1P18 memiliki respon hambat terhadap ketiga bakteri patogen dengan kategori sedang dengan nilai rata-rata diameter yaitu 9,5 mm, 6,8 mm dan 9,6 mm.

Isolat 1P19 memiliki respon hambat kategori sedang terhadap bakteri *Vibrio* sp dan *Aeromonas* sp dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 5 mm dan 6,7 mm, sedangkan terhadap bakteri *Pseudomonas* sp dikategorikan kuat dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 15 mm.

Kemudian isolat 2P20 memiliki respon hambat tergolong kategori kuat terhadap bakteri *Vibrio* sp dengan nilai rata-rata zona bening yaitu 12,3 mm. Sedangkan respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp tergolong kategori sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 9,3 mm.

Isolat 2P21 memiliki respon hambat yang tergolong kuat terhadap bakteri *Vibrio* sp dan *Pseudomonas* sp dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 15,9 mm dan 15 mm. Respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp dikategorikan sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 7,2 mm.

Isolat 2P22 menunjukkan respon hambat dengan kategori sedang terhadap ketiga bakteri patogen dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 8,5 mm, 6,7 mm dan 8,3 mm, sedangkan isolat 2P23 menunjukkan respon hambat dengan kategori kuat terhadap bakteri *Vibrio* sp dan *Pseudomonas* sp dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 15 mm dan 11,7 mm. Sedangkan respon hambat terhadap bakteri *Aeromonas* sp

tergolong kategori sedang dengan nilai rata-rata diameter zona bening yaitu 5,8 mm.

Menurut Greenwood dalam Pratama (2005), menyatakan bahwa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri apabila diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya sangat kuat, apabila diameter zona hambat berkisar antara 10-20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan kuat, apabila diameter zona hambat berkisar antara 5-10 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat lebih kecil dari 5 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan lemah.

Berdasarkan hasil uji antagonisme yang dilakukan, isolat bakteri heterotrofik yang diisolasi dari perairan Muara Sungai Siak mampu menghasilkan senyawa antimikroba dengan ditunjukkan adanya zona bening pada sekitar kertas cakram dengan ukuran diameter yang berbeda-beda.

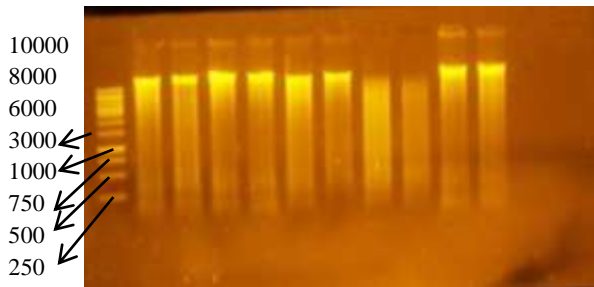
Zona bening yang terbentuk merupakan penanda bahwa ketidakmampuan bakteri patogen untuk tumbuh didaerah sekitar cakram. Zona bening yang terbentuk umumnya memiliki ukuran dengan kategori kuat.

Hal ini sesuai dengan penelitian Susana (2017) yang mengemukakan bakteri heterotrofik yang diuji dengan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp)

membentuk hambatan, bakteri heterotrofik tersebut menghasilkan produk antibiotik, bakteriosin, ataupun asam organik tertentu.

Elektroforesis DNA Total dan Hasil PCR

Elektroforesis adalah suatu proses yang dapat memisahkan atau memigrasikan fragmen DNA pada matriks berpori di bawah pengaruh medan listrik. Elektroforesis dilakukan untuk menentukan keutuhan DNA total (Novitasari *et al.*, 2014).



Gambar 3. Elektroforesis DNA Total dari 10 Isolat Bakteri

Hasil dari elektroforesis DNA total dapat dilihat Gambar 3 dan elektroforesis hasil PCR dapat dilihat pada Gambar 4. Munculnya pita DNA pada isolat 1P11, 1P12, 1P14, 1P15, 1P18, 1P19, 2P22 dan 2P23 terlihat tebal, sedangkan pita DNA isolat 2P20 dan 2P21 terlihat tipis. Selain itu pada hasil elektroforesis DNA total masih terlihat adanya *smear* tipis. Hal ini menandakan bahwa masih adanya

materi-materi yang tidak terdegradasi pada dinding sel isolat.



Gambar 4. Elektroforesis Produk PCR dengan Kondisi: 0,8% Gel Agarose

Besar ukuran dari hasil PCR yang ditunjukkan (Gambar 4) yaitu 1500 bp. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen-gen 16S rDNA bakteri yaitu 1500-1600 bp.

Squensing DNA dan Analisis BLAST

Sekuensing dilakukan dengan menggunakan primer 24F dan 1541R. Hasil dari squensing kemudian dianalisis BLAST dengan memasukkan fasta kesitus <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Analisis BLAST dilakukan untuk melihat nama spesies, tingkat homologi DNA hasil dari squensing masing-masing isolat dengan basis data yang sudah ada di *GenBank*. Hasil penelusuran BLAST dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil penelusuran sekuens 16S rRNA isolat bakteri dengan sistem BLAST

Isolat	Spesies	Strain	Kode Akses	Query Coverage	Homologi
1P11	<i>Bacillus cereus</i>	ZJNB-B3	MF679650.1	98%	98%
1P12	<i>Bacillus cereus</i>	DFT-5	KY750689.1	100%	99%
1P14	<i>Bacillus cereus</i>	XW2b	EU545398.1	98%	99%
1P15	<i>Bacillus cereus</i>	S5	KU927490.1	98%	97%
1P18	<i>Virgibacillus salarius</i>	SBPUWS5	LC189348.1	100%	85%
1P19	<i>Bacillus cereus</i>	Xmb051	KT986177.1	100%	99%
2P20	<i>Bacillus cereus</i>	BK4	KU258288.1	98%	96%
2P21	<i>Bacillus cereus</i>	SP4	KC136821.1	100%	91%
2P22	<i>Bacillus toyonensis</i>	DFT-2	KY750686.1	98%	99%
2P23	<i>Bacillus cereus</i>	NBRAJAT H9	EU661712.1	98%	99%

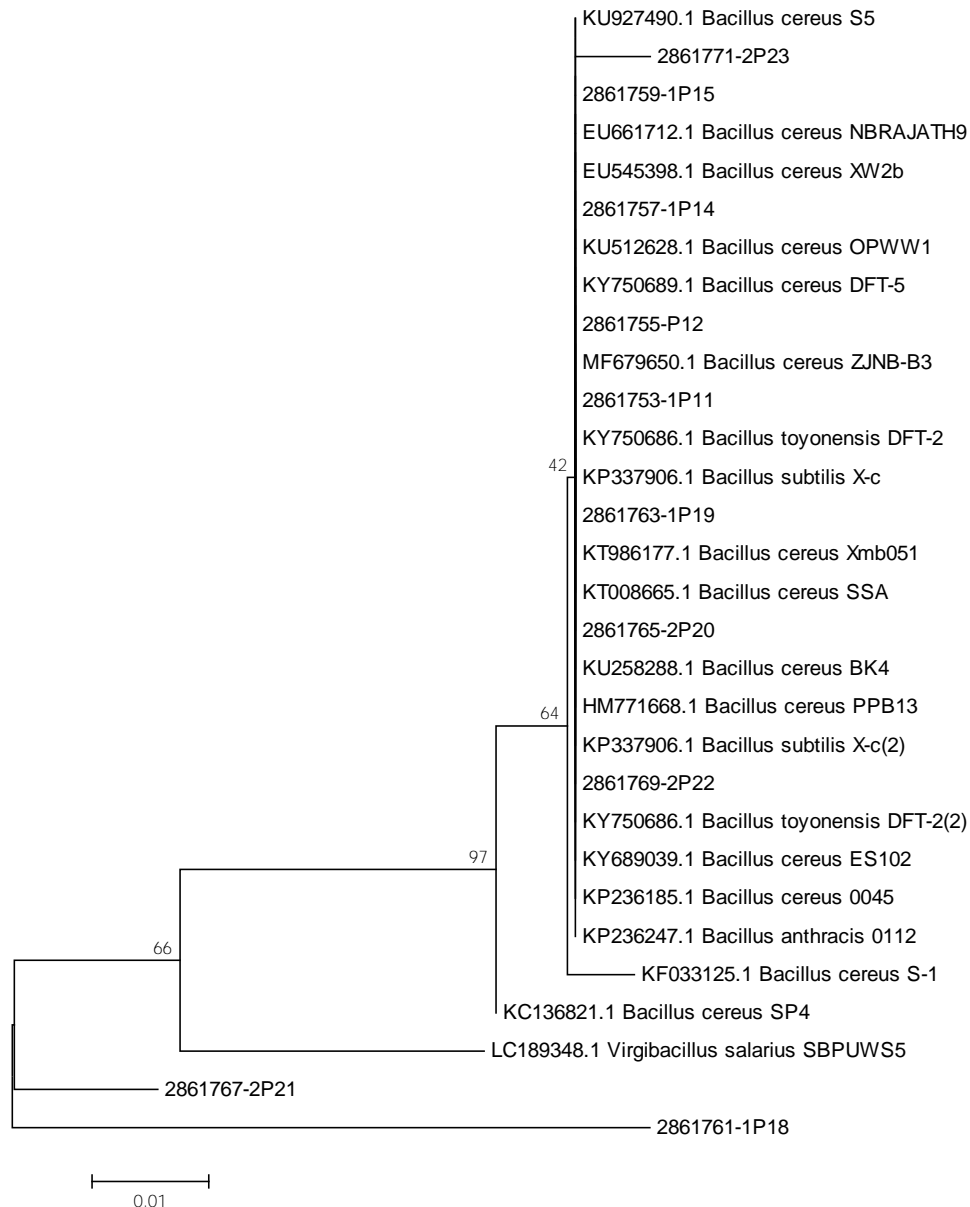
Sumber : BLAST

Hasil dari analisis BLAST semua sampel dapat dilihat tingkat homologinya. Kemudian hasil analisis BLAST dibuat pohon phylogenetiknya dengan memasukkan fasta bakteri pada database GenBank kedalam aplikasi MEGA.6. Pohon phylogenetik dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 5.

Pada hasil analisis BLAST (Tabel 6) dapat dilihat bahwa semua isolat bakteri memiliki tingkat kemiripan terhadap bakteri dari genus *Bacillus*. Berdasarkan hasil dari identifikasi secara morfologi dan biokimia, menunjukkan bahwa semua isolat bakteri heterotrofik termasuk kedalam genus *Bacillus*. Pada Tabel 3 yaitu hasil pengamatan morfologi menunjukkan bahwa umumnya koloni bakteri berwarna putih sampai dengan putih kekuningan. Selain itu koloni umumnya berbentuk bundar atau bulat

dengan tepian yaitu licin dan elevasi datar. Sedangkan hasil dari uji biokimia dapat dilihat isolat termasuk kedalam bakteri gram positif, katalase positif dan bersifat motil. Beberapa isolat juga mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Pernyataan ini didukung oleh Holt *et al* (1994) bakteri *Bacillus* merupakan bakteri Gram positif bersifat motil dengan flagel peritrik, endospora oval, kadang-kadang bundar atau silinder dan sangat resisten pada kondisi yang tidak menguntungkan. Warna koloni putih susu sampai kekuningan dengan tepian berombak. Bakteri ini bersifat aerobik, katalase positif, indol negatif dan mampu memfermentasi glukosa serta laktosa dan sukrosa. Tersebar luas pada bermacam-macam habitat dan sedikit spesies yang patogen. Suhu tumbuh optimum pada 28- 35⁰C.



Gambar 5. Pohon Phylogenetik dari masing-masing isolat

Selain itu berdasarkan uji antagonisme yang dilakukan, isolat bakteri heterotrofik memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Adithya (2017) dari ketujuh isolat bakteri

heterotrofik merupakan genus dari bakteri *Bacillus* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang diketahui berdasarkan uji antagonisme. Beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar keluar dari sel (Scetzer, 2006).

Hasil homologi sekuens 16S rRNA isolat 1P11 mempunyai kemiripan dengan *Bacillus cereus* strain ZJNB-B3 dengan tingkat homologi sebesar 98%. Hal ini menandakan tingkat kemiripannya sampai tingkat spesies. Kemudian isolat 1P12 memiliki tingkat homologi sampai tingkat spesies terhadap *B. cereus* strain DFT-5 dengan nilai 99%.

Isolat 1P14 memiliki tingkat homologi dengan *B. cereus* strain XW2b sebesar 99% hal ini menandakan tingkat kemiripannya sampai tingkat spesies. Isolat 1P15 memiliki tingkat homologi dengan *B. cereus* strain S5 sebesar 97 %, hal ini menandakan tingkat kemiripannya sampai tingkat genus. Kemudian isolat 1P19 memiliki kemiripan dengan *B. cereus* strain Xmb051 sebesar 99% hal ini menandakan kemiripannya sampai tingkat spesies.

Selanjutnya isolat 2P20 memiliki tingkat homologi dengan *B. cereus* strain BK4 sebesar 96%, hal ini menandakan bahwa tingkat kemiripan hanya sampai tingkat genus tetapi berbeda spesies. Kemudian isolat 2P21 memiliki tingkat homologi dengan *B. cereus* strain S-1 sebesar 91% dan isolat 2P23 memiliki tingkat homologi dengan *B. cereus* strain NBRAJAT sebesar 98% pada data base GenBank NCBI.

Selain itu isolat 2P22 mempunyai kemiripan homologi terhadap *Bacillus toyonensis* strain DFT-2 sebesar 99%, hal ini berarti

tingkat homologinya sampai pada tingkat spesies. Selanjutnya isolat 1P18 mempunyai tingkat homologi terhadap *Virgibacillus salarius* strain SBPUWS5 sebesar 85%. Hal ini berarti kemungkinan isolat 1P18 merupakan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum terdaftar pada GenBank.

Hal ini sesuai dengan pendapat Hagstrom dalam Lusiano (2007) yang menyatakan bahwa isolat yang mempunyai persamaan sekuens 16S rRNA lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama.

Persamaan sekuens 16S rRNA antara 93% - 97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies, sedangkan jika dibawah 93% kemungkinan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum masuk dalam data base GenBank.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri heterotrofik pada stasiun 1 dengan salinitas 25 ppt lebih tinggi dibandingkan dengan stasiun 2 pada salinitas 20 ppt. Kemudian dari 25 isolat yang telah dimurnikan, didapatkan sebanyak 10 isolat bakteri yaitu 1P11, 1P12, 1P14, 1P15, 1P18, 1P19, 2P20, 2P21, 2P22, 2P23 yang memiliki kemampuan antagonisme terhadap tiga bakteri patogen (*Vibrio*

sp, *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp).

Hasil analisis DNA dengan menggunakan sekuens 16S rRNA dan analisis BLAST didapatkan bahwa seluruh isolat memiliki kekerabatan dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Adapun spesies yang didapat yaitu *Bacillus cereus* (1P11, 1P12, 1P14, 1P15, 1P19, 2P20, 2P21, 2P23), *Bacillus toyonensis* (2P22) serta *Virgibacillus salarius* (1P18).

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui metabolit primer maupun sekunder yang dihasilkan dari sepuluh bakteri tersebut. Serta perlu dilakukan uji lanjut terhadap bakteri patogen lain seperti uji kemampuan dan uji metabolit baik primer maupun sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Adithiya, D. S., Feliatra dan Tanjung, A. 2017. Penggunaan Bakteri Heterotrofik Sebagai Anti Bakteri Terhadap Bakteri Patogen Yang diisolasi dari Perairan Laut Kota Dumai, Provinsi Riau. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Holt, J.G et al., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Page: 562-570.
- Lusiano, A. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dengan Sekuen 16S rDNA dari Sedimen Perairan Dumai. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Novitasari, D. A., Elvyra, R dan Roslim, D. I. 2014. Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Total pada *Kryptopterus Apogon* (Bleeker 1851) dari Sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir Kabupaten Kampar Provinsi Riau. *JOM FMIPA*. Vol. 1: 258-261.
- Salmin, 2000. Kadar Oksigen Terlarut di Perairan Sungai Dadap, Goba, Muara. Karang dan Teluk Banten. Dalam : *Foraminifera Sebagai Bioindikator Pencemaran*. Oseana. Vol. 3 : 21 -26.
- Sarwono, J. 2006. *Metode Penelitian Kuantitatif & Kualitatif*. Yogyakarta.
- Sudjana. 2005. *Teknik Analisis Regresi dan Korelasi Bagi Para Peneliti*. Bandung.
- Suhandono, S.A. Apriyanto, A.Pradita dan R. Anryansyah. 2011. *Buku Panduan Praktikum Biosistemika Mikroba (Ver. Bahasa) - Unpublished . Rev.2*.
- Susana, M. 2017. *Isolasi Dan Karakteristik Bakteri*

Heterotrofik Pada Perairan Laut
Kawasan Pemukiman Dan
Perairan Bersalinitas Rendah Di
Kelurahan Purnama Dumai
Provinsi Riau. *Skripsi*.
Pekanbaru:Universitas Riau.

Palimirmo, F. S., A. Damar dan H.
Effendi. 2016. Dinamika
Sebaran Bakteri Heterotrofik
di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu
Pertanian Indonesia*. Vol. 21
91): 26-34.

Pratama, M. R. 2005. Pengaruh Ekstrak
Serbuk kayu Siwak (*Salvadora
persica*) Terhadap Pertumbuhan
Bakteri *Streptococcus mutans*
dan *Staphylococcus aureus*
Dengan Metode Difusi Agar.
Skripsi. IPB. Bogor.