

JURNAL

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI HETEROTROFIK
TERHADAP BAKTERI PATOGEN DARI PERAIRAN LAUT
KABUPATEN SIAK, PROVINSI RIAU**

OLEH:

**RENDY LANI DINATA
1304115428**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2017**

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI HETEROTROFIK TERHADAP BAKTERI PATOGEN DARI PERAIRAN LAUT KABUPATEN SIAK, PROVINSI RIAU

Oleh:

Rendy Lani Dinata ¹⁾, Feliatra ²⁾, Dessy Yoswaty ²⁾

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau.
Rendylanidinata.rld@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri heterotrofik adalah bakteri yang membutuhkan karbon organik dan nitrogen anorganik sebagai sumber energi. Penelitian bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri heterotrofik, mengetahui hasil uji aktivitasnya terhadap bakteri patogen (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp) dan mengetahui spesies bakteri heterotrofik melalui uji DNA yang diisolasi dari perairan estuari bersalinitas 15 ppt dan kawasan industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara, Kabupaten Siak dengan salinitas 27 ppt. Jumlah bakteri pada stasiun 1 lebih tinggi jika dibandingkan stasiun 2 dengan nilai nilai $7,04 \times 10^7$ cfu/ ml pada stasiun 1 berbanding $6,46 \times 10^7$ cfu/ml pada stasiun 2. Selanjutnya melalui uji regresi linear sederhana diketahui bahwa hubungan pertumbuhan bakteri heterotrofik terhadap parameter lingkungan (DO, pH, suhu dan salinitas) berkategori sangat lemah dengan nilai $r = 0,10$ diseluruh parameter. Berdasarkan uji antagonisme terhadap bakteri patogen diketahui bahwa terdapat 9 isolat bakteri yang berpotensi menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen, yaitu: RM3, RM4, RM5, RM6, RM8, RM11, RL15, RL17 dan RL 24 dengan rentang zona hambat berkisar antara 0,6 – 18mm, dimana isolat RM11 (12-15,3 mm) sebagai isolat yang terbaik dalam sifat menghambatnya. Melalui identifikasi bakteri heterotrofik secara molekuler dengan teknik 16s rRNA dan analisis BLAST diketahui bahwa jenis bakteri yang ditemukan antara lain *Bacillus safensis*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter* sp, *Enterococcus* sp dan *Vagococcus* sp serta diketahui terdapat 2 isolat yang tidak teridentifikasi dan dimungkinkan merupakan spesies yang belum terdaftar pada situs *Genbank* NCBI karena memiliki persentase homologi hanya sebesar 84%.

Kata Kunci: Bakteri Heterotrofik, Distribusi, Antagonisme, DNA.

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru.

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

ISOLATION AND TEST OF HETEROTROF BACTERIA ACTIVITY TO PATHOGEN BACTERIA FROM SEA DISTRICT SIAK REGENCY, RIAU PROVINCE

By:

Rendy Lani Dinata ¹⁾, Feliatra ²⁾, Dessy Yoswaty ²⁾

Departement of Marine Science, Faculty of Fishery and Marine, University of Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau.
Rendylanidinata.rld@gmail.com

ABSTRACT

Heterotrophic bacteria are bacteria that require organic carbon and inorganic nitrogen as an energy source, Research aims to determine the number of heterotrophic bacteria, knowing the results of its activity test against pathogenic bacteria (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp) and to know the species of heterotrophic bacteria through DNA test isolated from estuari waters of 15 ppt and the industrial estuary at coastal areas Sungai Kayu Ara village with salinity 27 ppt, Siak District. Distribution of bacteria at station 1 higher than station 2 with value of nilai $7,04 \times 10^7$ cfu / ml at station 1 to $6,46 \times 10^7$ cfu / ml at station 2. Furthermore, through simple linear regression test known that the growth of heterotrophic bacteria on environmental parameters (DO, pH, temperature and salinity) categorized very weakly with the value of $r = 0.10$ in all parameters. Based on the antagonism test on pathogenic bacteria, it was found that there were 9 bacterial isolates that potentially inhibited the growth of the three pathogenic bacteria, namely: RM3, RM4, RM5, RM6, RM8, RM11, RL15, RL17 and RL 24 with inhibit zone ranges from 0.6 - 18mm, where the RM11 (12-15.3 mm) isolate as the best isolate in its inhibitory properties. By DNA test with 16S rRNA method and BLAST analysis, it was found that *Bacillus safensis*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter* sp, *Enterococcus* sp and *Vagococcus* sp species were identified as unidentified and possibly non-registered species in Genbank NCBI because it has a homology percentage of only 84%.

Keywords: Heterotrophic Bacteria, Distribution, Antagonism, DNA

¹⁾ Student of Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau in Pekanbaru.

²⁾ Lecture of Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau in Pekanbaru.

PENDAHULUAN

Kabupaten Siak merupakan salah satu daerah di Provinsi Riau yang termasuk kedalam kawasan pesisir. Kabupaten Siak memiliki kawasan pesisir pantai yang berhampiran dengan Kabupaten Bengkalis dan merupakan salah satu kawasan yang sibuk akan berbagai aktivitas manusia, karena merupakan kawasan yang padat akan pemukiman dan kegiatan industri.

Beragam proses-proses fisik, aktivitas industri dan antropogenik serta transportasi laut memberikan kontribusi pada konsentrasi senyawa organik dan anorganik yang mempengaruhi distribusi serta aktivitas bakteri (Santos *et al.*, 2013). Berbagai masukan dari proses-proses tersebut tentunya akan mempengaruhi daya tampung dan daya dukung lingkungan pesisir, apabila daya dukung dan daya tampung terlampaui memungkinkan terjadinya pencemaran di lingkungan pesisir sehingga menimbulkan kerugian bagi manusia sendiri.

Tercemarnya lingkungan perairan di kawasan pesisir merupakan efek yang biasa terjadi akibat masuknya bahan pencemar ke lingkungan perairan. Di lingkungan perairan tersebut, keterlibatan mikroorganisme jelas tidak dapat diabaikan (Feliatra *et al.*, 2011). Mikroorganisme laut pada dasarnya sangat beragam, sebagaimana halnya dengan kerabat mikroorganisme yang ada di darat. Organisme yang dapat dikelompokkan sebagai mikroba laut antara lain adalah protista, sianobakteri (*cyanobacteria*), bakteri, jamur dan virus. Mikroorganisme tersebut berperan penting dalam proses-proses yang

berlangsung dalam kolom-kolom air laut.

Bakteri heterotrofik mampu memanfaatkan bahan organik maupun anorganik pada lingkungan tempat tumbuhnya sebagai sumber nutrisi. Pada siklus biogeokimia di perairan, 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 (Luo *et al.*, 2010).

Bakteri patogen merupakan jenis bakteri yang sering menimbulkan efek negatif bagi manusia. 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 senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tanaman, hewan atau dihasilkan oleh mikroba yang umumnya dikenal dengan istilah biopreservatif.

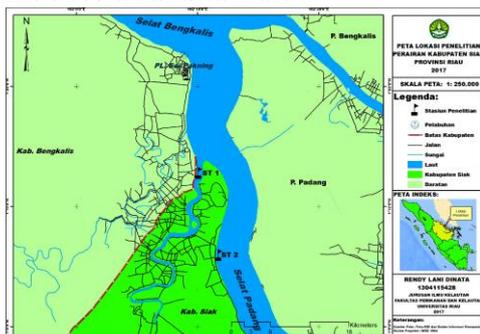
Adanya permasalahan bakteri patogen pada lingkungan tercemar dan memungkinkannya bakteri heterotrofik menghasilkan senyawa antimikroba, menjadi alasan yang mendasari penelitian ini.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri heterotrofik di kedua stasiun, mengetahui hasil uji aktivitas bakteri heterotrofik terhadap bakteri patogen (*Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp) dan mengetahui spesies bakteri heterotrofik dari

kedua stasiun melalui uji DNA. Adapun manfaat dari penelitian ini adalah menjadi sumber informasi ilmiah bagi publik mengenai bakteri heterotrofik di perairan laut serta aktivitasnya terhadap bakteri patogen.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei-September 2017. Metode yang digunakan adalah metode survei dimana sampel air diambil pada perairan estuari bersalinitas 15 ppt (Stasiun 1) dan perairan laut yang tercemar industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara (Stasiun 2) Kabupaten Siak-Provinsi Riau (Gambar 1). Kegiatan analisis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, dan untuk analisis DNA dilakukan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Sedangkan proses sequencing dikirim ke PT.Genetika Science Indonesia Jakarta Barat.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Isolasi Bakteri

Sampel air laut diencerkan menggunakan larutan fisiologis 0,9 gr NaCl dengan ditambahkan 1000 ml aquades, pengenceran akan dilakukan dengan ulangan 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dimasukkan

kedalam tabung reaksi, setelah itu sampel akan dimasukan kedalam larutan fisiologis dengan pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml dan divortex sampai homogen, selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} akan diambil 1 ml dimasukkan larutan fisiologis dengan pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai pengenceran 10^{-6} .

Pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} akan diambil sebanyak 0,1 ml dan ditumbuhkan pada media NA yang salinitasnya disesuaikan dengan salinitas titik sampling. Media yang ditumbuhkan bakteri akan diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 28°C . Koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis meliputi perbedaan bentuk, ukuran, tekstur, dan warna. Koloni pada media agar NA secara acak diambil dan dihitung jumlah koloni.

Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang didapat diidentifikasi secara morfologi dan biokimia. Pengamatan morfologi meliputi bentuk sel, warna koloni, ukuran koloni dan tipe koloni. Uji biokimia meliputi pewarnaan gram, uji katalase, uji methyl red, uji motilitas, uji indol, uji sitrate, uji TSIA dan uji sulfida (H_2S).

Aktivitas Antagonisme

Pengujian aktivitas antagonistik atau konfrontasi dengan bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi agar, yang mengacu pada metode menurut Wolf dan Gibbons *et al.*, (1996). Bakteri patogen uji yang telah di murnikan diambil sebanyak 25 μL dan ditanam kedalam media NA dan diratakan homogen. Setelah media yang berisi biakan bakteri patogen memadat diberi kertas cakram yang ditetesi dengan larutan antibiotik yakni

Amoxan @500g sebagai kontrol positif dan kertas cakram yang ditetesi media NB sebanyak 5 µL sebagai kontrol negatif dan kertas cakram yang ditetesi isolat bakteri heterotrofik sebanyak 5 µL dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya di inkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Filtrat yang mengandung substansi antibakteri akan melakukan penghambatan terhadap bakteri patogen yang dibuktikan dengan adanya zona bening disekitar cakram. Besarnya aktivitas antibakteri ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening di sekitar cakram.

Identifikasi Bakteri Heterotrofik Secara Molekuler dengan Teknik 16S rRNA

Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan menggunakan metode PCR 16S rRNA, dimana sampel bakteri yang ada diremajakan pada media NB terlebih dahulu.

Kegiatan identifikasi secara molekuler ini dimulai dengan proses isolasi DNA bakteri heterotrofik, selanjutnya dielektroforesis untuk melihat keberadaan dari DNA total bakteri tersebut. Setelah yakin pita DNA didapat kemudian dilakukan proses PCR, yang berguna untuk mereplikasi pita DNA hingga mencapai ± 1500BP.

Isolat DNA yang telah melalui proses PCR kemudian dikirim ke *First base* - Singapura untuk dilakukan proses Purifikasi dan Sequencing. Hasil dari sequencing ini lah nantinya akan dilakukan analisis BLAST untuk melihat spesies bakteri yang didapat melalui penelusuran pada situs *Genbank* NCBI, kemudian dilihat tingkat homologinya terhadap sequence

bakteri yang terdaftar pada situs tersebut.

Analisis Data

Data 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 kopi ke program Notepad. Selanjutnya dilakukan penelusuran melalui website <http://www.ncbi.nih.nlm.gov/>. Data yang diperoleh dari hasil *sequence* dianalisis menggunakan teknik BLAST, paket program Clustal W, Mega.06, dan *Bioedit*.

Untuk mengetahui hubungan antara jumlah bakteri heterotrofik terhadap parameter lingkungan (pH, Suhu, Salinitas dan DO) maka di hitung dengan menggunakan rumus uji regresi linear sederhana:

$$Y = a + bX$$

Dimana:

Y: Parameter Lingkungan

a: Konstanta

b: Koefisien regresi

X: Jumlah Bakteri

Berdasarkan analisis regresi linear sederhana menurut Sudjana (1966), untuk melihat keeratan hubungan digunakan koefisien (r) dengan kriteria sebagai berikut:

0,00-0,20 :Hubungan sangat lemah

0,21-0,40 :Hubungan lemah

0,41-0,70 :Hubungan sedang

0,71-0,90 :Hubungan kuat

0,91-1,00 :Hubungan sangat kuat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Kualitas Perairan

Hasil pengukuran kualitas air di muara sungai Siak dan di perairan

laut Desa Sungai Kayu Ara dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kualitas Perairan

Parameter	Stasiun	
	1	2
Koordinat	01° 13' 2,3" LU	01° 05' 59,8" LU
	102° 10' 24,4" BT	102° 12' 19" BT
Ph	6	6,5
Salinitas	15 ppt	27 ppt
Suhu	30°C	31°C
Kecerahan	6,5 cm	23,5
DO	6,88 mg/l	4,24 mg/l
Kecepatan Arus	0,2 m/s	0,7 m/s

Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa jika hasil pengukuran kualitas perairan tersebut dibandingkan dengan nilai baku mutu menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.51 Tahun 2004, maka diketahui bahwa stasiun 1 memiliki kondisi perairan yang lebih baik dibandingkan dengan stasiun 2 untuk menunjang kehidupan biota laut.

Jumlah Bakteri Heterotrofik dan Hubungannya Terhadap Parameter Lingkungan

Hasil perhitungan bakteri heterotrofik dari kedua stasiun, menunjukkan bahwa pada kawasan estuari sungai Siak memiliki jumlah bakteri heterotrofik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah bakteri yang berada pada kawasan industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara. Perhitungan bakteri heterotrofik menunjukkan bahwa rata-rata jumlah bakteri heterotrofik pada stasiun 1 adalah: $4,3 \times 10^6$ cfu/ml, sedangkan pada stasiun 2 rata-rata jumlah bakteri heterotrofik adalah: $2,9 \times 10^6$ cfu/ml. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Bakteri Heterotrofik

Stasiun	Rata-rata Jumlah Bakteri (cfu/ml)
Stasiun 1	$7,04 \times 10^7$
Stasiun 2	$6,46 \times 10^7$

Berdasarkan Tabel 3 hasil perhitungan tersebut dapat dilihat bahwa rata – rata jumlah bakteri heterotrofik pada muara sungai Siak lebih tinggi jika dibandingkan dengan kawasan industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara.

Jumlah bakteri heterotrofik lebih banyak terdapat di muara sungai dibandingkan dengan kawasan yang berdekatan dengan lokasi industri, hal ini diduga karena masukkan bahan – bahan organik dari daratan yang menumpuk dan mengendap di muara sungai sehingga mendukung pertumbuhan bakteri heterotrofik di kawasan tersebut. Menurut Palmirmo *et al* (2016) Daerah dekat muara sungai dipengaruhi aliran sungai yang membawa pasokan material organik secara terus menerus sehingga dapat memacu pertumbuhan bakteri heterotrofik yang memanfaatkan materi organik sebagai sumber nutrisinya.

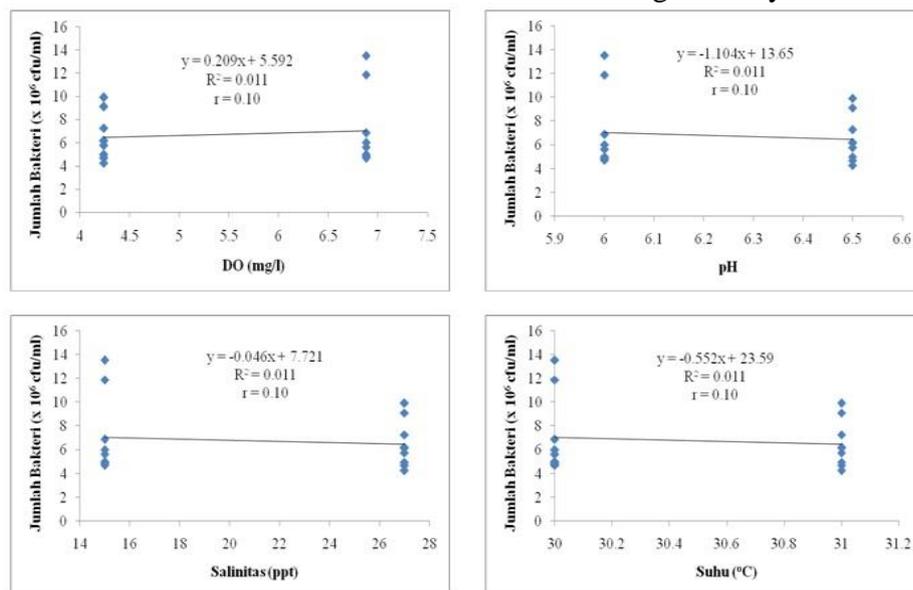
Tingginya masukkan bahan organik disebabkan masukkan bahan – bahan organik dari daratan yang menumpuk dan mengendap di muara sungai Siak tersebut sehingga mendukung pertumbuhan bakteri heterotrofik di kawasan tersebut, sedangkan pada kawasan industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara merupakan perairan laut yang cukup jauh dari muara sungai Siak sehingga masukkan bahan organik tidak terlalu terkonsentrasi pada kawasan tersebut. Selain itu aktivitas industri yang berada di sekitar perairan tersebut juga sedikit banyak

mempengaruhi distribusi bakteri heterotrofik pada kawasan tersebut.

Keberadaan bakteri heterotrofik umumnya dipengaruhi oleh keberadaan bahan organik sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya, namun parameter lingkungan juga memiliki andil dalam keberadaannya. Kondisi parameter lingkungan yang tepat dapat membantu pertumbuhan bakteri. Untuk itu perlu dilihat bagaimana hubungan antara pertumbuhan bakteri heterotrofik terhadap parameter lingkungan, yang meliputi pH, DO, suhu dan salinitas. Hubungan distribusi bakteri terhadap parameter lingkungan dapat dilihat pada Gambar 2.

r diketahui bahwa seluruh parameter bernilai sama yaitu 0,10 yang berarti hubungan pertumbuhan bakteri heterotrofik terhadap parameter lingkungan berhubungan sangat lemah.

Lemahnya hubungan ini sesuai dengan hasil penelitian Notowinarto dan Agustina (2015) yang mengemukakan bahwa hubungan korelasi antar stasiun pengamatan terhadap sebaran kepadatan total bakteri umum maupun vibrio (TBU/TBV) tampaknya tidak nyata (non-signifikan). Walaupun tingkat hubungan (nilai r) lebih dari 50%. Begitupula terhadap parameter kualitas air, hanya ada indikasi korelasi signifikan yakni Ammonium



Gambar 2. Hubungan Jumlah Bakteri terhadap Parameter Lingkungan

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa untuk parameter pH, suhu dan salinitas menunjukkan semakin tinggi nilainya maka pertumbuhan bakteri heterotrofik akan semakin menurun, sedangkan untuk DO kebalikannya, dimana semakin tinggi nilai DO maka akan semakin tinggi pula pertumbuhan bakteri heterotrofik. Namun dari nilai

(NH₄ -OH; mg/L; r=56,33%) yang cukup berhubungan dengan kondisi padatan dan sebaran bakteri umum ataupun vibrio. Sedangkan unsur Phosphat (PO₄-P; mg/L) memiliki nilai korelasi dengan populasi TBV cukup tinggi dan positif (r=68,34%). Kadar phosphat pada batas terendah, sangat penting untuk pertumbuhan

organisme bakteri di perairan terbuka laut.

Morfologi dan Biokimia

Berdasarkan 25 isolat yang ada selanjutnya terpilih 9 isolat yang berpotensi dalam sifat antagonismenya terhadap 3 bakteri patogen yang berbeda, hasil pengamatan morfologi 9 isolat bakteri tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa secara morfologi isolat bakteri yang berpotensi dalam sifat antagonismenya terhadap bakteri patogen umumnya berbentuk bundar, dengan tepian licin, berwarna putih hingga putih kekuningan dan elevasi timbul dengan diameter koloni berkisar antara 0,8 – 1,1 cm.

Untuk hasil uji biokimia ke 9 isolat yang berpotensi dalam sifat antagonismenya terhadap 3 bakteri patogen yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4. Dari hasil uji biokimia diketahui bahwa secara biokimia isolat bakteri yang berpotensi dalam sifat antagonismenya terhadap bakteri patogen umumnya memiliki aktifitas biokimia Gram, katalase dan Motolitas bersifat positif. Sedangkan Indol, H²S, MR (*Methyl Red*) dan Citrat bersifat negatif. Untuk uji TSIA sendiri menunjukkan umumnya bakteri ini memfermentasi Glukosa, Laktosa dan Sukrosa.

Hasil Uji Aktivitas Antagonisme

Dari 25 isolat yang diuji antagonismenya terhadap bakteri *Vibrio* sp, *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp didapat 9 isolat yang potensial antagonismenya terhadap 3 bakteri patogen yang berbeda. Hasil uji antagonisme 9 isolat yang potensial tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa isolat bakteri RM8, RM11, RL15 dan RL24 merupakan jenis bakteri heterotrofik yang memiliki respon hambat pertumbuhan bakteri patogen berkategori kuat dengan nilai 10,6 – 18 mm terhadap ke tiga bakteri patogen. Sedangkan isolat bakteri RM3, RM4, RM5, RM6 dan RL17 merupakan jenis bakteri heterotrofik yang memiliki respon hambat pertumbuhan bakteri patogen berkategori lemah hingga sedang dengan nilai 0,6 – 10,8 mm terhadap ke tiga bakteri patogen.

Terbentuknya zona hambat oleh bakteri heterotrofik terhadap bakteri patogen mengindikasikan bahwa bakteri heterotrofik dapat menghasilkan salah satu dari produk dari hasil metabolit sekunder bakteri, yang dapat berupa antibiotik ataupun bakteriosin.

Sesuai dengan pendapat Verschuere *et al.* (2000), populasi mikroba dapat melepaskan substansi kimia yang mempunyai kemampuan bakteisidal atau bakterioistatis yang dapat mempengaruhi populasi mikroba lain. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain dikarenakan oleh beberapa faktor seperti: produksi antibiotik, bakteriosin, siderphores, lisosom, protease dan hidrogen peroksida atau mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu. Agen antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Fauziah, 2012). Hal ini dikarenakan agen antibakteri mampu menurunkan pH menjadi rendah sehingga bakteri patogen sulit bertahan hidup (Tambekar dan Bhutada, 2010).

Tabel 3. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri Heterotrofik yang Berpotensi dalam Sifat Antagonisme terhadap Patogen

Nama Isolat	Diameter (cm)	Warna	Bentuk Koloni	Tepian	Elevasi
RM3	1	Putih Kekuningan	Bundar	Licin	Timbul
RM4	0,9	Putih	Bundar	Licin	Timbul
RM5	0,7	Putih Kekuningan	Bundar	Licin	Timbul
RM6	0,8	Putih Kekuningan	Tak Beraturan dan Menyebar	Berombak	Timbul
RM8	0,9	Putih	Bundar dengan Tepian Menyebar	Bercabang	Timbul
RM11	1,1	Putih	Bundar dengan Tepian Menyebar	Bercabang	Datar
RL15	1	Putih Kekuningan	Bundar dengan Tepian Timbul	Licin	Seperti Tombol
RL17	0,9	Putih Kekuningan	Bundar dengan Tepian Timbul	Berombak	Seperti Kawah
RL24	1,1	Putih Kekuningan	Bundar dengan Tepian Timbul	Licin	Seperti Kawah

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri Heterotrofik yang Berpotensi dalam Sifat Antagonisme terhadap Patogen

Nama Isolat	Gram	Katalase	Motilitas	Indol	H ² S	Uji TSIA			MR	Citrat
						G	L	S		
RM3	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
RM4	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
RM5	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
RM6	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
RM8	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
RM11	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
RL15	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
RL17	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
RL24	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-

Tabel 5. Hasil Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik

Nama Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)														
	<i>Vibrio sp</i>					<i>Aeromonas sp</i>					<i>Pseudomonas sp</i>				
	(+)	U1	U2	U3	R	(+)	U1	U2	U3	R	(+)	U1	U2	U3	R
RM3	9	10	8	9	9	12	11	10	11,5	10,8	7	9	9	11	9,6
RM4	16	11	10	11	10,6	5,5	6,5	6,5	8,5	7,1	4	5	4	3,5	4,1
RM5	16	8	5	5	6	6,5	12	10,5	8	10,1	7	9	6	8	7,6
RM6	6	11	8	7	8,6	6,7	20	19	15	18	4	5	6	7	6
RM8	6	14	16	14	14,6	6	14	13	14	13,6	6	10	12	13	11,6
RM11	8	14,5	15	16,5	15,3	6	14,5	12,5	15	14	6	9,5	12,5	14	12
RL15	11	13	15	15	14,3	6,5	6	10	16	10,6	5	20	16	14	16,6
RL17	4	0,4	0,5	1	0,6	7,5	1	0,8	0,7	0,8	3	8	9	8,5	8,5
RL24	11,5	12	13	16	13,6	6	8	10	15	11	5	19	17	13,5	16,5

Berdasarkan hasil uji antagonisme yang menunjukkan bahwa terdapat zona bening pada 3 bakteri patogen yang berbeda, maka dapat dikatakan bahwa bakteri heterotrofik laut dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Susana (2017) yang mengemukakan Isolat bakteri heterotrofik yang diisolasi dari perairan laut menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dan bisa berpotensi untuk dikembangkan sebagai salah satu alternatif sumber antimikroba sehingga dapat memberikan nilai tambah terhadap kegiatan budidaya ikan.

Analisis BLAST dan Filogenetik

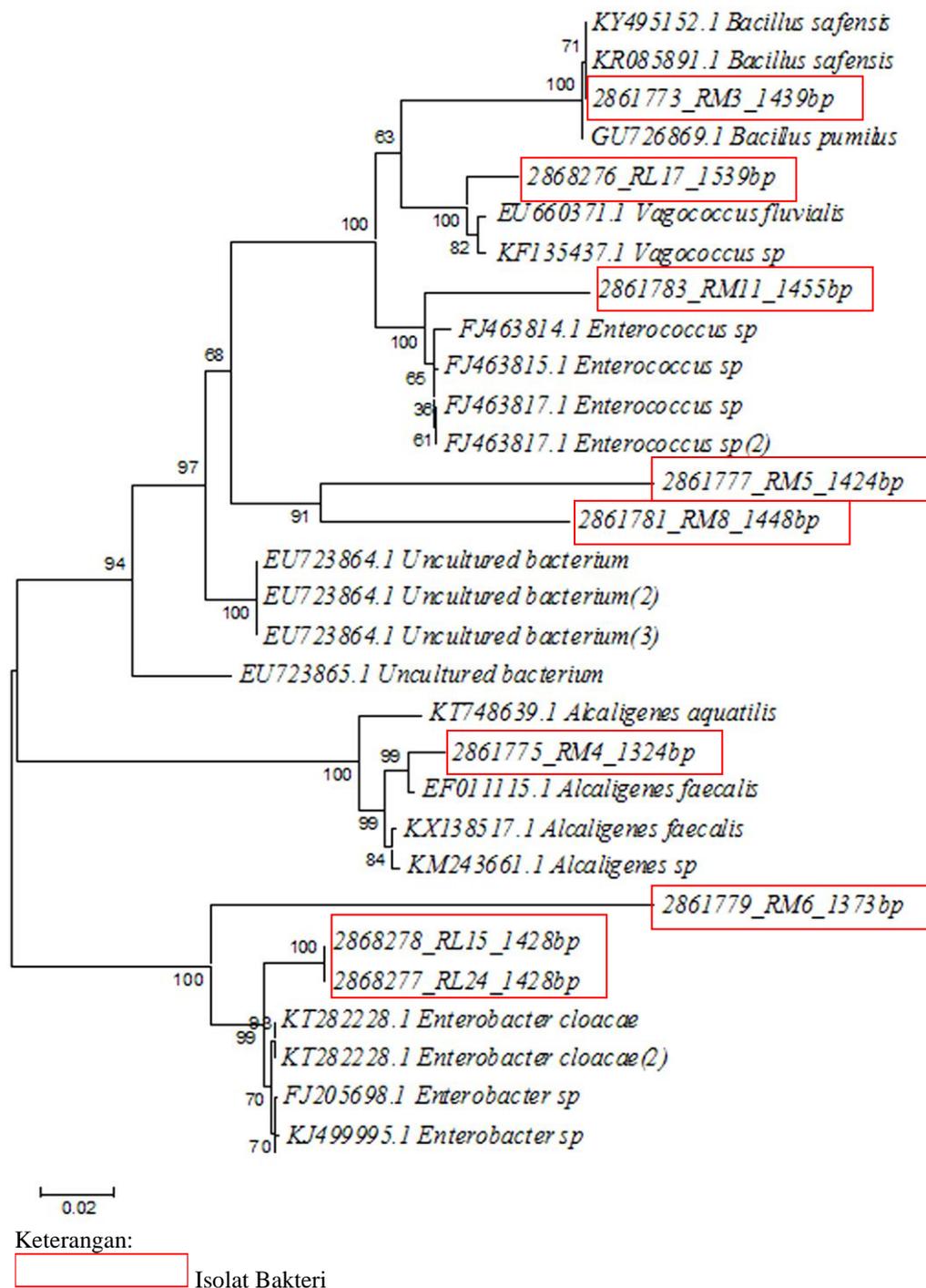
Sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> untuk mencari nama spesies, presentase homologi DNA hasil sekuens dengan basis data yang sudah ada di *Gen Bank*. Hasil identifikasi masing masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dengan homologi tertinggi yang mempunyai kekerabatan terdekat dapat dilihat pada Tabel 6.

Isolat	Spesies	Homology
RM3	<i>Bacillus safensis</i>	99%
RM4	<i>Alcaligenes faecalis</i>	98%
RM5	<i>Uncultured bacterium</i>	84%
RM6	<i>Enterobacter</i> sp	97%
RM8	<i>Uncultured bacterium</i>	84%
RM11	<i>Enterococcus</i> sp	93%
RL15	<i>Enterobacter cloacae</i>	91%
RL17	<i>Vagococcus fluvialis</i>	96%
RL24	<i>Enterobacter cloacae</i>	91%

Berdasarkan hasil analisis BLAST dapat dilihat bahwa jenis bakteri heterotrofik yang berhasil ditelusuri dengan sistem BLAST beragam, namun untuk menentukan bakteri hingga tingkat spesies diperlukan tingkat homologi $\geq 97\%$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hanya isolat RM 3 dan RM 4 yang diketahui spesiesnya yaitu *Bacillus safensis* dan *Alcaligenes faecalis*, sedangkan isolat lain yang memiliki tingkat homologi $< 97\%$ hanya dapat diketahui hingga tingkat genus. Namun pada isolat RM5 dan RM8 didapat hasil *Uncultured bacterium* dengan tingkat homologi yang paling terendah yaitu 84%, hal ini diduga karena spesies ini belum terdaftar di *Genbank* NCBI, atau terdapat kemungkinan bahwa bakteri ini belum teridentifikasi sebelumnya.

Berdasarkan hasil analisis BLAST selanjutnya dibuat pohon filogenetik untuk melihat hubungan kekerabatan isolat bakteri terhadap spesies bakteri yang terdapat pada situs *Genbank* NCBI berdasarkan kemiripan dan perbedaan karakteristik genetika mereka, pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan bantuan *software* Omega dapat dilihat pada Gambar 3.

Untuk mengetahui jenis bakteri melalui analisis BLAST diperlukan suatu parameter, dan parameter tersebut adalah tingkat homologi sequens DNA yang kita punya terhadap Sequens DNA yang telah terdaftar di *Genbank* NCBI, semakin tinggi persentase tingkat homologi maka semakin besar pula kecocokan jenis bakteri tersebut terhadap data yang terdapat di *Genbank* NCBI. Hal ini dikuatkan oleh Hagstrom *et al.* (2000) menyatakan bahwa isolat yang mempunyai persamaan sekuens 16S rDNA lebih besar dari 97%



Gambar 3. Filogenetik Isolat Bakteri Heterotrofik

dapat mewakili spesies yang sama. Sedangkan persamaan sekuens antara 93%-97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies.

Dengan keberadaan bakteri yang merupakan organisme yang paling beragam jumlahnya di dunia, maka semakin besar pula peluang ditemukannya jenis bakteri yang belum teridentifikasi atau pun belum

terdaftar di *Genbank* NCBI, sehingga terkadang analisis BLAST tidak dapat menunjukkan nama spesies dari DNA bakteri yang kita jumpai, hal ini terjadi karena persentase homologinya kecil. Apabila kondisi ini terjadi maka dapat terdapat kemungkinan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri yang belum teridentifikasi di *Genbank* NCBI. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Feliatra *et al* (2011) mengemukakan bahwa Hasil BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) melalui <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, menunjukkan strain ketujuh memiliki persentase homologi 94% dengan beberapa kandidat bakteri yang disebut sebagai *Uncultured bacterium*. Isolat ketujuh yang memiliki top score adalah *Uncultured bacterium* clone nbw171g06c1 16S ribosomal RNA gene partial sequence. Berdasarkan informasi yang diperoleh dengan mengakses kode tersebut menunjukkan bahwa bakteri dengan kode akses ini bukanlah bakteri *Vibrio* sp melainkan suatu spesies bakteri yang diperoleh dari sedimen.

Berdasarkan hasil analisis BLAST diketahui bahwa isolat RM 3 memiliki kecocokan hingga 99% terhadap bakteri *Bacillus safensis*. Bakteri *B. safensis* pertama kali diidentifikasi pada tahun 2006 sebagai kontaminan dari fasilitas perakitan ruang angkasa di Amerika Serikat dari situ kemudian julukan khusus 'safensis' berasal (Satomi *et al.*, 2006). Berdasarkan hasil penelitian Lateef *et al* (2015) mengemukakan bahwa *B. safensis* sebagai produsen keratinase dengan potensi yang luar biasa dalam biodegradasi limbah bulu, destaining dari kain bernoda darah dan dehairing dari kulit hewan.

Isolat RM4 memiliki kecocokan hingga 98% terhadap bakteri *Alcaligenes faecalis*. Bakteri *A. faecalis* merupakan salah satu bakteri yang bersifat patogen terutama pada jenis penyakit infeksi kulit dan jaringan lunak, berdasarkan penelitian Tena *et al* (2015) *A. faecalis* harus dianggap sebagai patogen potensial terutama pada jenis penyakit infeksi kulit dan jaringan lunak, terutama pada pasien dengan penyakit vaskular atau setelah operasi. Riwayat kontak dengan larutan air atau air harus diselidiki dalam semua kasus. Hasil klinis biasanya baik, namun pengobatan bisa sulit terjadi pada beberapa kasus karena tingginya tingkat resistensi terhadap antibiotik yang umum digunakan.

Isolat RM6, RL15 dan RL 25 memiliki kecocokan hingga tingkat genus, terhadap bakteri dari genus *Enterobacter* sp. Menurut Villegas dan Quin (2017) dalam artikelnya menyebutkan Spesies enterobacter bersifat motil aerobik gram basil negatif milik famili Enterobacteriaceae. Spesies utama adalah *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes* dan *E. agglomerans*. Mereka pertama kali mencapai ketenaran yang luas sebagai patogen pada tahun 1976 setelah terjadi wabah septikemia secara nasional di 378 pasien di 25 rumah sakit akibat solusi intravena yang terkontaminasi. Karena mereka dapat meniru cairan induk yang mengandung glukosa, mereka terus menyebabkan wabah sporadis tipe ini.

Untuk isolat RM11 diketahui memiliki kecocokan terhadap *Enterococcus* sp hingga 93%. *Enterococcus* sp tumbuh secara aerobik dan anaerobik secara luas pada kisaran suhu (10-45°C), dalam kisaran pH yang lebar (4,6 - 9,9), dan

dengan adanya konsentrasi sodium yang tinggi klorida (NaCl) dan garam empedu (Holzapfel dan Wood, 2014). *Enterococcus* sp bisa bertahan lagi di lingkungan laut dengan kapasitas mereka untuk mentolerir konsentrasi garam tinggi (Harwood *et al.*, 2000). Biasanya digunakan sebagai indikator tinja di lingkungan perairan karena kelimpahan dalam kotoran dan kelangsungan hidup mereka yang lama di lingkungan sekitar (Manero *et al.*, 2002).

Isolat RL17 memiliki kecocokan hingga tingkat genus dengan nilai 96% terhadap *Vagococcus* sp. Genus bakteri *Vagococcus* diusulkan pada tahun 1989 untuk bakteri Gram-positif, katalase-negatif, motil, bakteri berbentuk coccus yang bereaksi dengan antigen Lismon antagon (Collins *et al.*, 1989). Menurut Wang *et al* (2011) mengemukakan bahwa Sebagian besar perwakilan *Vagococcus* telah diisolasi dari lingkungan perairan, menunjukkan bahwa anggota genus ini memiliki sifat yang dioptimalkan untuk keberadaan dan kelangsungan hidup di habitat laut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapat kesimpulan yaitu:

1. Jumlah bakteri heterotrofik pada stasiun 1 lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun 2, dengan nilai $7,04 \times 10^7$ cfu/ ml pada stasiun 1 dan $6,46 \times 10^7$ cfu/ml pada stasiun 2. Distribusi bakteri heterotrofik yang tinggi pada muara sungai Siak jika dibandingkan dengan kawasan industri di pesisir Desa Sungai

Kayu Ara menunjukkan bahwa masukkan bahan organik yang lebih tinggi di muara sungai Siak jika dibandingkan dengan kawasan industri di pesisir Desa Sungai Kayu Ara tersebut.

2. Hasil uji antagonisme bakteri heterotrofik terhadap aktivitas bakteri patogen menunjukkan bahwa terdapat 9 isolat bakteri yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dengan rentang zona hambat berkisar antara 0,6 – 18mm. Selanjutnya isolat RM11 (12-15,3 mm) merupakan isolat yang terbaik dalam sifat antagonismenya terhadap bakteri patogen, dengan menunjukkan nilai zona bening terbesar terhadap masing-masing bakteri patogen.
3. Melalui uji DNA diketahui bahwa jenis bakteri heterotrofik ditemukan antara lain, *Bacillus safensis*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter* sp, *Enterococcus* sp dan *Vagococcus* sp serta diketahui terdapat 2 isolat yang tidak teridentifikasi dan dimungkinkan merupakan spesies yang belum terdaftar pada *Genbank* NCBI.

Saran

Sebaiknya untuk penelitian selanjutnya dilakukan uji lanjut untuk mengetahui produk metabolit yang dihasilkan oleh bakteri heterotrofik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Selain itu perlu di lakukan penelitian lebih lanjut untuk 2 isolat bakteri heterotrofik yang belum teridentifikasi melalui *Genbank* NCBI.

DAFTAR PUSTAKA

- Collins. M.D., C. Ash, J.A. Farrow, S. Wallbanks dan A.M. Williams. 1989. *16S ribosomal ribonucleic acid sequence analyses of lactococci and related taxa. Description of Vagococcus fluvialis gen. nov., sp. nov. J. Appl. Bacteriol.* Vol. 67:453–460
- Fauziah. P. N. 2012. Penghambatan adhesi berbagai strain *Klebsiella pneumoniae* oleh *Lactobacillus bulgaricus* dalam soyghurt secara in vitro pada Hep-2 cell lines dengan berbagai proses perlakuan infeksi. *Skripsi*. Bandung: Universitas Padjadjaran. .
- Feliatra., T. Titania dan 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 3:85 - 99.
- Feliatra., Y. Fitria dan Nursyirwani. 2012. Antagonis bakteri probiotik yang diisolasi dari usus dan lambung ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Vol 17(1): 16 – 25.
- Hagstrom. A., J. F. Pinhassi dan U. L. Zweiefel. 2000. *Biogeographical Diversity Among Marine Bacterioplankton. Aquatic Microbial Technology .Aquatic Microbial Technology*. Vol.21: 231-244.
- Harwood. V.J., J. Whitlock dan V. Withington. 2000. *Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66(9): 3698–3704.
- Holzappel. W.H dan B. J. B. Wood. 2014. *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*, New York: Wiley-Blackwell press.
- Lateef. A., I.A. Adelere, dan E.V. Gueguim-kana. 2015. *Bacillus safensis LAU 13: a new source of keratinase and its multi-functional biocatalytic applications. Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Vol. 29(1): 54-63.
- Luo. Y. W., M.A.M. Friedrichs, S.C. Doney, M.J. Church dan H.W. Ducklow. 2010. *Oceanic heterotrophic bacterial nutrition by semilabile DOM as revealed by data assimilative modeling. Aquatic Microbiology Ecology*. Vol 1:27 3- 287.
- Manero. A., X. Vilanova, M. Cerd`a-Cu`ellar, dan A. R. Blanch. 2002. *Characterization of sewage waters by biochemical fingerprinting of Enterococci. Water Research*. Vol. 36(11): 2831–2835.

- Notowinarso dan F. Agustina 2015. Populasi bakteri *Heterotrof* di perairan Pulau Bulang Batam. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. Vol . 1(3): 334 – 342.
- Palmirmo. F.S., A. Damar dan H. Effendi. 2016. Dinamika Sebaran Bakteri Heterotrofik di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. Vol 21(1): 26-34.
- Santos. L. M. P., A.L. Santos dan F. J. R. Coelho. 2013. *Heterotrophic activities of neustonic and planktonic bacterial communities in an estuarine environment (Ria de Aveiro)*. *Journal Plankton Res.* Vol 36(1): 230 – 242.
- Satomi. M., T. Myron, L. Duc dan K. Venkateswaran. 2006. *Bacillus safensis sp. nov., isolated from spacecraft and assembly facility surfaces*. *Int J Syst Evol Microbiol*. Vol.56 :1735-1740.
- Sudjana. 1996. *Teknik Analisis Regresi dan Korelasi*. Bandung:Tarsito.
- Susana. M. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Heterotrofik pada Perairan Laut Kawasan Pemukiman dan Perairan Bersalinitas Rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Tambekar. D. H. dan S. A. Bhutada. 2010. *An evaluation of probiotic potential of Lactobacillus sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections*. *Recent Research Science and Technology*. Vol. 2(10): 82-88.
- Tena. D., C. Fernandez dan M.R. Lago. 2015. *Alcaligenes faecalis: an unusual cause of skin and soft tissue infection*. *Jpn J Infect Dis*. Vol. 68(2): 128-130.
- Verscheure. L., G. Rombaut, B. Sorgeloos dan W. Vestraete. 2000. *Probiotik Bacteria As Biological Control Agents In Aquaculture*. *Microbial and mol. Biol. rev.*Vol.64: 655-671.
- Villegas. M.V dan J.P. Quinn. 2017. *Enterobacter species*. <http://www.antimicrobe.org/index.asp>. *Diakses* 6 Oktober 2017.
- Wang. L., Y.S. Cui, C.S. Kwon, S.T. Lee, J.S. Lee dan W.T. Im. 2011. *Vagococcus acidifermentans sp. nov., isolated from an acidogenic fermentation bioreactor*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61:1123–1126 Weinbauer. M.G. 2004. *Ecology of prokaryotic viruses*. *FEMS MicrobiolRev.* Vol 28(1): 27 –81.