

**JURNAL**

**UJI AKTIVITAS BAKTERI HETEROTRIFIK LAUT YANG DIISOLASI  
DARI MUARA SUNGAI MASJID DUMAI  
TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

**OLEH**

**ZHILALUL HUDA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN  
UNIVERSITAS RIAU  
PEKANBARU  
2019**

# ACTIVITY OF HETEROTROPHIC BACTERIA ISOLATED FROM MASJID RIVER, DUMAI, AGAINST PATHOGENIC BACTERIA

By

Zhilalul Huda<sup>1)</sup>, Feliatra<sup>2)</sup>, Nursyirwani<sup>2)</sup>

Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine,  
University of Riau, Pekanbaru, Riau  
*hudaipm@gmail.com*

## ABSTRACT

Heterotrophic bacteria is a group of organism that play important role in biogeochemical processes in aquatic ecosystem. The bacteria are able to decompose and remineralize organic materials into a simple inorganic components which is turn to nutrients for phytoplankton, perifiton, and other aquatic microflora. This Study was conducted from September to October 2018. The purpose of this study wos to obtain bacterial isolates that can be used as an antibacterial against pathogenic bacteria and to identify bacteria found in River estuary Masjid Dumai of Riau Province. Based DNA character the result found 10 bacterial isolates. The bacterial (1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1J, 2C, 2D, and 2G). These bacteria were able to inhibit the pathogenic growth. DNA identification using PCR and 16S rRN sequence technique resulting found 6 types of bacteria, namely *Bacillus cereus* strain ATCC 14579, *B. anthracis* strain ATCC 14578 16S, *B. methylotrophicus* strain CBMB205 16S, *B. thuringensis* strain YBT-1518, *B. pseudomycoides* strain NBRC, and *B. anthracis* strain C10.

***Keywords: Heterotrophic Bacteria, Antibacteria, 16S rRNA Sequence, Pathogens.***

1. Student of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau, Pekanbaru
2. Lecturer of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau, Pekanbaru

# UJI AKTIVITAS BAKTERI HETEROTRIFIK LAUT YANG DIISOLASI DARI MUARA SUNGAI MASJID DUMAI TERHADAP BAKTERI PATOGEN

Oleh

Zhilalul Huda<sup>1)</sup>, Feliatra<sup>2)</sup>, Nursyirwani<sup>2)</sup>

Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan  
Universitas Riau, Pekanbaru, Riau  
*hudaipm@gmail.com*

## ABSTRAK

Bakteri heterotrofik adalah kelompok organisme yang memainkan peran penting dalam proses biogeokimia dalam ekosistem perairan. Bakteri mampu menguraikan dan meremineralisasi bahan organik menjadi komponen anorganik sederhana yang beralih ke nutrisi untuk fitoplankton, perifiton, dan mikroflora akuatik lainnya. Penelitian ini dilakukan dari bulan September hingga Oktober 2018. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan untuk mengidentifikasi bakteri yang ditemukan di muara Sungai Masjid Dumai, Provinsi Riau. Berdasarkan karakter DNA hasilnya ditemukan 10 isolat bakteri. Bakteri (1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1J, 2C, 2D, dan 2G). Bakteri ini mampu menghambat pertumbuhan patogen. Identifikasi DNA menggunakan teknik sekuens PCR dan 16S rRN yang dihasilkan menemukan 6 jenis bakteri, yaitu *Bacillus cereus* strain ATCC 14579, *B. anthracis* strain ATCC 14578 16S, *B. methylotrophicus* strain CBMB205 16S, *B. thuringensis* strain YBT-1518, *B. pseudomycooides* strain NBRC, dan *B. anthracis* strain C10.

***Kata Kunci: Bakteri Hetrotrofik, Antagonisme, Sekuens 16S rRNA, Bakteri Patogen***

---

---

1. Mahasiswa Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau
2. Dosen Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

## PENDAHULUAN

Berdasarkan hidro-oseanografisnya perairan laut Dumai sangatlah penting dimana tingkat kesuburan perairan sangat tinggi karena fenomena pola arus yang terjadi di perairan Dumai menyebabkan adanya sirkulasi dan pertukaran masa air laut, sebagai akibat dari proses ini menyebabkan kondisi ekosistem diperairan laut menjadi subur. Kesuburan di perairan laut Dumai dapat juga dipengaruhi oleh pasokan material organik yang berasal dari daratan melalui aliran sungai. Hal ini terlihat dari beberapa sungai yang bermuara ke laut seperti Sungai Masjid.

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, bakteri, jamur dan virus. Mikroorganisme tersebut berperan penting dalam proses-proses yang berlangsung dalam kolom-kolom air laut (Feliatra, 2010). Bakteri adalah organisme yang paling banyak jumlahnya dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup lainnya. Adanya populasi bakteri merupakan indikator sanitasi yang menunjukkan bahwa air telah tercemar oleh buangan limbah. Bakteri umumnya bersifat fakultatif dan heterotrofik, dapat hidup tanpa oksigen secara mutlak atau dapat hidup tanpa adanya oksigen.

Bakteri heterotrofik merupakan organisme yang berperan penting

dalam siklus biogeokimia didalam ekosistem perairan, karena bakteri mampu melakukan dekomposisi dan remineralisasi bahan-bahan organik menjadi komponen anorganik yang lebih sederhana yang merupakan hara untuk fitoplankton, perifiton, dan mikroflora akuatik lainnya (Kunarjo dan Agustin, 2012). Oleh karena itu, bakteri pengurai ini memegang peranan penting dalam menjaga kelangsungan siklus hidup biota di laut.

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

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan molekuler. Metode identifikasi bakteri secara konvensional ini memiliki kelemahan. Metoda ini tidak dapat digunakan

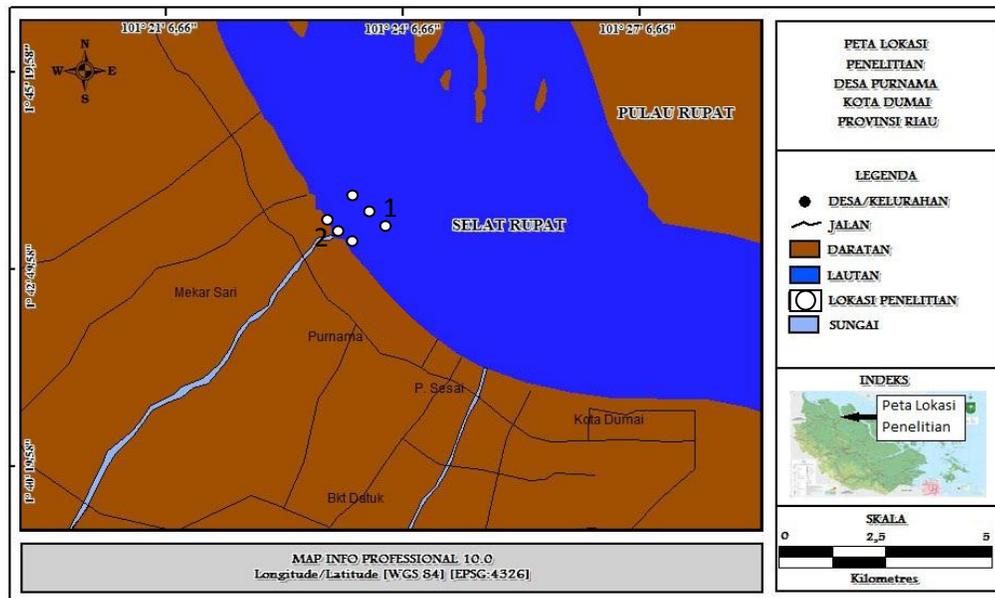
untuk organisme yang belum teridentifikasi. Metode deteksi yang dikembangkan saat ini adalah metode deteksi secara molekuler melalui analisis DNA genom yang berbasis teknik PCR. Metode PCR telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi patogen. Melihat dari beberapa pertimbangan, metode ini dinilai lebih baik dibandingkan dengan metode yang lainnya. Menurut Yanti *et al.*, (2018) 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 “Uji Aktivitas Bakteri Heterotrofik Laut Yang Diisolasi Dari Perairan

Muara Sungai Masjid Dumai Terhadap Bakteri Pathogen”.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2018. Pengambilan sampel dilakukan di perairan muara Sungai Masjid dekat pantai dan yang menjorok ke laut 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 First Base Malaysia yang dikirim oleh PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta Barat.



Gambar 1. Peta Lokasi Stasiun Penelitian

## Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode survei, dimana sampel yang digunakan yaitu sampel air laut dari perairan Muara Sungai Masjid Dumai untuk diidentifikasi dan analisis DNA. Serta metode eksperimen dimana dilakukan untuk uji antibakteri pada tiga bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.) yang berbeda. Data yang diperoleh dari hasil isolasi, identifikasi, analisis dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data kemudian dibahas secara deskriptif berdasarkan literatur untuk diambil suatu kesimpulan.

## Sumber dan Isolasi Bakteri

Metode agar sebar (*Spread Plate*) digunakan pada proses isolasi bakteri heterotrofik. Sampel air laut diambil sebanyak 1 ml, lalu dimasukkan kedalam larutan fisiologis (NaCl 1%) untuk memperoleh pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ . Serial pengenceran dari sampel dilakukan dengan menggunakan 1% NaCl. Kemudian pada pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  diambil sebanyak 0,1  $\mu$ l dan ditumbuhkan pada media padat Nutrien Agar (NA). Media yang ditumbuhkan bakteri diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 28 – 30 °C didalam inkubator dengan posisi cawan terbalik. Semua tahapan dilakukan secara aseptis. Koloni bakteri yang tumbuh direinokulasi secara berulang hingga didapatkan isolat murni.

Permurnian bakteri dilakukan dengan metode goresan (*Streak Plate*).

Masing-masing cawan petri dari hasil penanaman bakteri diambil beberapa koloni bakteri yang menampilkan morfologi yang berbeda. Koloni bakteri tersebut digoreskan pada permukaan media NA, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam. Setelah masa inkubasi diamati pertumbuhannya, jika masih belum diperoleh kultur murni, maka permurnian dengan metode goresan kembali dilakukan.

## 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 dan uji sulfida ( $H_2S$ ).

## Uji Antimikroba

Pengujian aktivitas antagonistik atau konfrontasi dengan bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi agar, yang mengacu pada metode menurut *Wolf dan Gibbons et al.*, (1996). Sebanyak satu ose dari setiap isolat bakteri diinokulasi pada 10 ml medium Nutrien borth (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Kultur bakteri tersebut ditetaskan sebanyak 0,5  $\mu$ l pada *paperdisc* dan dibiarkan selama 15 menit agar kultur bakteri meresap, kemudian *paperdisc* yang sudah berisi bakteri tersebut diletakkan diatas media yang berisi bakteri patogen (*V.*

*alginoliticus*, *A. hyrophila* dan *Pseudomonas* sp) pada media NA dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar *paperdisc*. Sebagai kontrol positif digunakan Amoxan dan kontrol negatif digunakan NB tanpa isolat bakteri. Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih dalam mili meter (mm) disekitar *paperdisc* dengan menggunakan jangka sorong.

### **Isolasi dan Amplifikasi DNA**

Isolasi DNA bakteri heterotrofik dilakukan melalui proses ekstraksi. Dalam mengekstraksi DNA bakteri heterotrofik diambil sebanyak 1,5 ml sampel yang telah dimurnikan dengan media cair *Nutrien Borth* (NB). Selanjutnya proses ekstraksi ini menggunakan empat larutan yaitu larutan W1 *Buffer*, Gel DNA Binding (*GB Buffer*), Wash *Buffer* dan Elution *Buffer* dan disentrifus pada 13.000 rpm. Selanjutnya dilakukan PCR dengan sekuen 16S rDNA menggunakan mesin *Thermal Cycler*. Untuk proses PCR 16S volume 50 µl, kedalam mikrotube 0,2 ml dimasukkan bahan-bahan sebagai berikut: aquabides 90 µl, primer 24F 1 µl, primer 1541R 1 µl, DNA tamplate 1 µl dan master mix 49 µl sehingga volume total 50 µl. Kemudian, mesin *Thermal Cycler* dijalankan dengan pengaturan suhu sebagai berikut: suhu *denaturasi* 94 °C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50,7 °C selama 45 detik, ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit 30

detik. Ketiga proses ini dijalankan sebanyak 30 siklus selama 1 jam.

DNA yang telah diamplifikasi diuji dengan elektroforesis pada gel agarose 1,2% (untuk melihat fragmen DNA). Larutan Tris acetate EDTA (TAE) 100 ml ke dalam elektroforesis hingga gel agarose terendam. Kemudian dilakukan preparasi DNA marker sebanyak 1 µl, sampel hasil PCR diambil sebanyak 2 µl dan ditambah dengan loading dye sebanyak 1 µl. Kemudian disuntikkan ke dalam lubang sumuran dengan menggunakan mikropipet. Pasang tutup elektroforesis dan aliran listrik akan dihidupkan dengan voltage diatur 70 V selama 25 menit atau hingga indikator warna bromphenol blue bergerak  $\frac{3}{4}$  bagian dari panjang gel. Setelah warna bromphenol blue mencapai 75 % dari panjang gel, proses dihentikan dan gel agarose direndam dalam larutan ethidium bromide (EtBr) selama 5 menit. Untuk menghentikan proses pewarnaan, maka gel agarose direndam dalam akuades selama 10 menit. Kemudian gel agarose diletakkan diatas UV transiluminator untuk dilakukan pengamatan band yang terbentuk.

### **Analisis Sekuen Sekuens DNA**

Isolat bakteri heterotrofik dibandingkan dengan sekuen DNA pada DNA Database Gen Bank. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet, yaitu melalui sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang diakses melalui *The World Wide*

Web dengan alamat  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengukuran Kualitas Air

Pengambilan Sempel dilakukan pada 2 stasiun, disetiap stasiun diambil 3 titik sampling dengan jarak 50 meter, dan dilakukan pengambilan pengukuran kualitas air untuk mengetahui kondisi stasiun saat pengambilan sampel. Hasil pengukuran kualitas air, sampel diambil pada siang hari dengan pH berkisar 6-7. Dengan salinitas pada Stasiun 1 sebesar 25 ppt, dan pada Stasiun 2 berkisar 21 – 25 ppt. Dengan suhu 30 °C. Kuantitas arus berkisar 5, 2 – 13, 5 m/s.

### Identifikasi Bakteri secara Morfologi, Sifat Fisika dan Kimia

Berdasarkan lokasi pengambilan sampel air, isolasi, dan berdasarkan dari kondisi morfologi yang baik dan daya hambat antimikroba (zona bening) paling besar dari setiap isolat, hanya dipilih 10 isolat untuk analisis sekuen 16S rDNA. Dari hasil identifikasi koloni dan uji biokimia pada Isolat 1A memiliki morfologi: bentuk koloni bulat, warna koloni putih krim sel bacillus, bersifat Gram-negatif, bersifat motil, tidak dapat membentuk indol, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa, dan sukrosa.

Isolat 1B memiliki ciri morfologi berikut: Bentuk koloni tidak beraturan, warna putih sel cocobacill, bersifat Gram positif, bersifat motil,

dan dapat membentuk indol, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 1C memiliki ciri morfologi sebagai berikut: Bentuk koloni bulat dan memiliki kawah berwarna keputihan bentuk sel coccus, bersifat Gram-negatif, in-motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 1D memiliki ciri morfologi sebagai berikut: Bentuk koloni bulat, warna koloni putih, bentuk sel coccus, bersifat gram positif, in-motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sakrosa.

Isolat 1E memiliki ciri morfologi sebagai berikut: Bentuk koloni bulat berkawah, berwarna putih, sel coccus, bersifat gram positif, motil, dapat menghasilkan sitrat, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan Sakrosa.

Isolat 1F memiliki ciri morfologi berikut: Bentuk koloni bulat cekung, berwarna putih, sel bacil, bersifat gram positif, motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa, dan sakrosa.

Isolat 1J memiliki morfologi bulat, berwarna putih, sel coccus, Gram positif, motil, indol positif, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa, dan sakrosa.

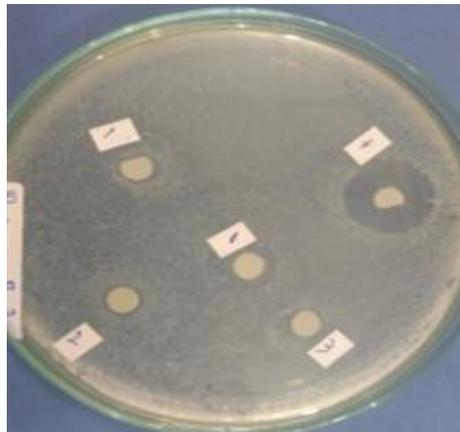
Isolat 2C memiliki morfologi bulat tidak beraturan, berwarna putih, sel bacil, bersifat gram positif, katalase positif, in-motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa, dan sakrosa.

Isolat 2D memiliki morfologi sebagai berikut: Bulat dengan tepian karang, berwarna putih, sel cocobasilus, bersifat gram positif, katalase positif, in-motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sakrosa.

Isolat 2G memiliki morfologi sebagai berikut: Bentuk koloni tidak beraturan, berwarna putih susu, sel coccus, bersifat gram positif, katalase positif, motil, dan dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sakrosa.

### Uji Aktivitas Bakteri Heterotrofik Terhadap Bakteri Patogen

Hasil yang diperoleh pada Uji antagonis dilakukan sebanyak 3 kali Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5. Masing masing isolat bakteri memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Bakteri, terdapat zona bening.

Menurut Susana (2017), 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.

Dari hasil uji diperoleh bahwasannya isolat 1B tergolong katagori hambat kuat terhadap katagori hambat kuat terhadap bakteri *V. alginolyticus*. Isolat bakteri yang memiliki daya hambat sedang yaitu isolat 1A dan 1B terhadap bakteri *V. alginolyticus*, isolat 1E dan 1D terhadap bakteri *A. hydrophila*, dan 1A dan 2G terhadap bakteri *P. stutzeri*. Sedangkan isolat yang lainnya

tergolong pada katagori lemah terhadap bakteri patogen lainnya. Dan seluruh isolate tergolong dalam katagori lemah pada bakteri uji yang berbeda, ini disebabkan oleh kemampuan dari masing-masing bakteri dalam melawan aktifitas antibakteri berbeda-beda bergantung pada ketebalan dan komposisi dinding selnya.

Bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif dibedakan berdasarkan struktur dinding selnya. Bakteri Gram-positif memiliki beberapa lapisan peptidoglikan sehingga lapisan peptidoglikannya

tebal. Umumnya, 90% penyusun dinding sel bakteri Gram-positif merupakan peptidoglikan. Dinding sel bakteri Gram-positif mengandung teichoic acid. Ada dua tipe teichoic acid, yaitu lipoteichoic acid, yang menjangkau lapisan peptidoglikan dan terhubung ke membran plasma, dan Wall teichoic acid, yang terhubung dengan lapisan peptidoglikan (Tortora *et al.*, 2010).

Secara umum, dinding sel mempunyai fungsi untuk memberi kekuatan secara structural pada sel dan memberi perlindungan dari lisisnya sel. Dinding sel bakteri mempunyai lapisan yang kaku dan keras yang bertanggung jawab untuk memberi kekuatan pada sel. Bahkan, bakteri Gram-negatif mempunyai lapisan tambahan diluar lapisan yang kaku tadi. Lapisan yang kaku itulah yang disebut peptidoglikan. Sementara itu, sel bakteri menghadapi tekanan osmotik yang tinggi, sekitar dua

atmosfer pada kebanyakan sel bakteri. Sel memanfaatkan dinding sel untuk menahan tekanan tersebut dan mencegah sel dari pelisisan (Madigan *et al.*, 2012).

Berbeda halnya dengan bakteri Gram-positif, bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis. Namun, dinding sel bakteri Gram-negatif mempunyai membran luar. Membran luar terdiri dari lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan fosfolipid. Peptidoglikan terikat dengan lipoprotein di membran luar dan periplasma, yaitu struktur seperti gel yang berada di antara membran luar dan plasma membran. Selain itu, dinding sel bakteri Gram-negatif tidak mengandung *teichoic acid* (Tortora *et al.*, 2010)

Bakteri Gram - positif memiliki struktur dinding sel yang berlapis, sedangkan bakteri Gram-negatif mempunyai satu lapis yang tebal. Salah satu mekanisme antibiotik ialah merusak struktur dinding sel pada membran plasma sehingga kemampuan membran plasma sel bakteri sebagai penghalang (*barrier*) osmosis menjadi berkurang dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran (Brogden *dalam* Mambang *et al.*, (2014).

Senyawa antimikroba yang menyerang bakteri merusak dinding selnya atau mencegah sintesisnya, sehingga akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmotik atau dikenal

dengan istilah trauma. 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. Membran sitoplasma pada bakteri berperan sebagai *barrier* pemebilitas selektif, membawa fungsi transpor aktif dan

kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi transpor 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 4. Uji Biokimia dari masing masing Isolat**

<b>Kode Sampel</b>	1A	1B	1C	1D	1E	1F	1J	2C	2D	2G
<b>Gram</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Katalase</b>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>Motilitas</b>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<b>Indol</b>	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TSIA T</b>	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
<b>M</b>	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
<b>Uji Gula</b>										
<b>Glukosa</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Laktosa</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Sakrosa</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>MR</b>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sitrat</b>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<b>Bentuk sel</b>	Bacil	Cocu	Cocu	Cocu	Cocu	Bacil	Cocu	Bacil	Bacil	Bacil

Sumber: Data Primer, 2018

- : Uji Bersifat Negatif
- + : Uji Bersifat Positif
- K : Bewarna Kuning
- M : Bewarna Merah

Tabel 5. Hasil Pengukuran Rata-Rata Aktivitas Zona Bening Bakteri

Isolat	Bakteri Uji														
	<i>Vibrio alginolyticus</i>					<i>Aeromonas hydrophila</i>					<i>Pseudomonas stutzeri</i>				
	(+)	U1	U2	U3	R(mm)	(+)	U1	U2	U3	R(mm)	(+)	U1	U2	U3	R(mm)
<b>1A</b>	7	8	5,5	6	5,9	8	2,5	2,5	2,5	2,5	8	<b>7,5</b>	<b>10</b>	<b>8,6</b>	<b>8,7</b>
<b>1B</b>	7	<b>13</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>10,3</b>	8	2	1	1	1,3	8	2	2,5	2,5	2,3
<b>1C</b>	7	<b>6</b>	<b>5,5</b>	<b>4</b>	<b>5,2</b>	8	3,5	3,5	2	3	8	3	3	3	3
<b>1D</b>	7	4	3	3	3,3	8	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>8,5</b>	<b>7,5</b>	8	3	2,5	2,5	2,67
<b>1E</b>	7	2	4	3	3	8	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>8,3</b>	8	3	4	4	3,67
<b>1F</b>	7	1	1	1	1	8	2,4	3,5	3,5	3,1	8	2,5	3,5	3,5	3,1
<b>1J</b>	7	1	3,5	5	3,16	8	2,5	2,5	2	2,3	8	3,4	3,5	3,5	3,5
<b>2C</b>	5	4	3,5	3	3,5	7	2	2	2,5	2,2	7	2,5	4	3	3,1
<b>2D</b>	5	3,5	2,5	3	3	7	3	2,5	2,5	2,67	7	3,5	3,5	3,5	3,5
<b>2G</b>	5	3,5	3	1,5	2,7	7	2,5	3	2,5	2,67	7	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>

Sumber: Data Primer, 2018

Hasil diatas sudah dikurangi Paper Disc 6 mm

Keterangan:

(+) = Kontrol Positif

U1 = Ulangan 1

U2 = Ulangan 2

U3 = Ulangan 3

R = Rata-Rata dalam milimeter

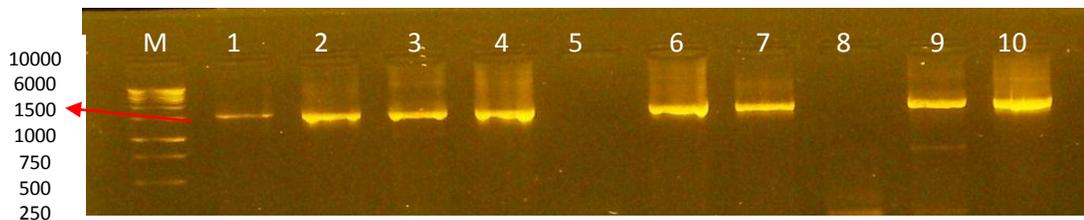
### Hasil Ekstraksi DNA Total

Hasil ekstraksi DNA total di elektroforesis dengan menggunakan Gel Agarose 1,2 % dari larutan TBE 1 x untuk menunjukkan DNA

kromosomal yang telah dimurnikan. Hasil elektroforesis DNA Total ditunjukkan pada gambar 2. Dan hasil elektroforesis DNA ditunjukkan pada Gambar 3



Gambar 2. Elektroforesis DNA Total Isolat Bakteri dengan dengan konsentrasi Agarose 1,2%, marker DNA 1 kb ladder.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis PCR, Condition 1% agarose gel volume sampel yang dimuat 1 ul permasing-masing line ; 1kb DNA Ladder (bp): 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 5000, 6000, 8000, 10000.

Keterangan :

1. Isolat 1A 3. Isolat 1C 5. Isolat 1E 7. Isolat 1F 9. Isolat 2D
2. Isolat 1B 4. Isolat 1D 6. Isolat 1F 8. Isolat 2C 10. Isolat 2G

Dari hasil elektroforesis dapat dilihat pada (Gambar 3) besar ukuran PCR yang dihasilkan adalah sekitar 1500 bp, besaran ukuran ini sesuai dengan yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA bakteri, Sabdono dalam Erlangga (2014), menyatakan bahwa Aplikasi isolat bakteri yang memiliki pita tunggal menunjukkan bahwa primer yang digunakan adalah primer spesifik untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA pada bakteri. Aplikasi dan keanekaragaman dari mikroorganisme laut.

### Analisis BLAST dan Filogenetik Sistem

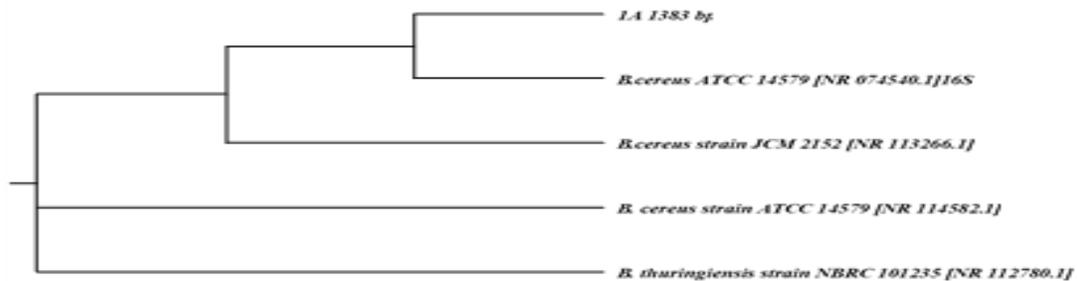
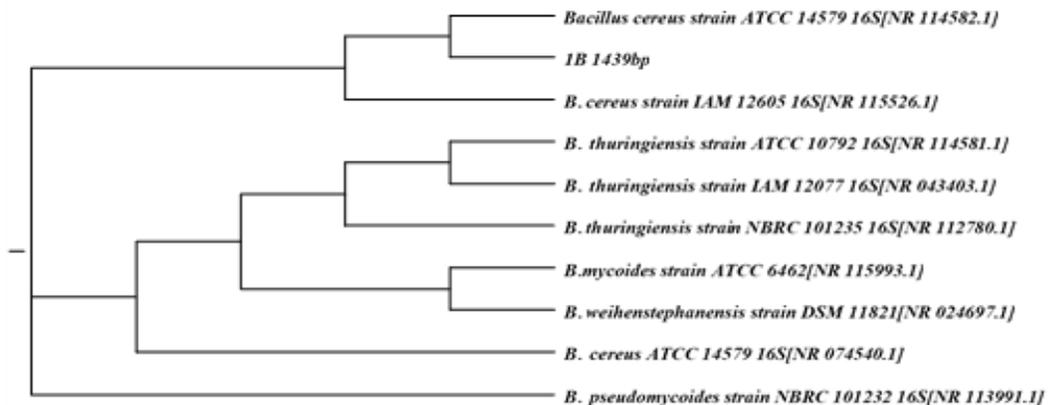
BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> untuk mencari nama spesies, presentase homologi DNA hasil sekues dengan basis data yang sudah ada di Gen Bank. Hasil identifikasi masing masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dengan homologi tertinggi yang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

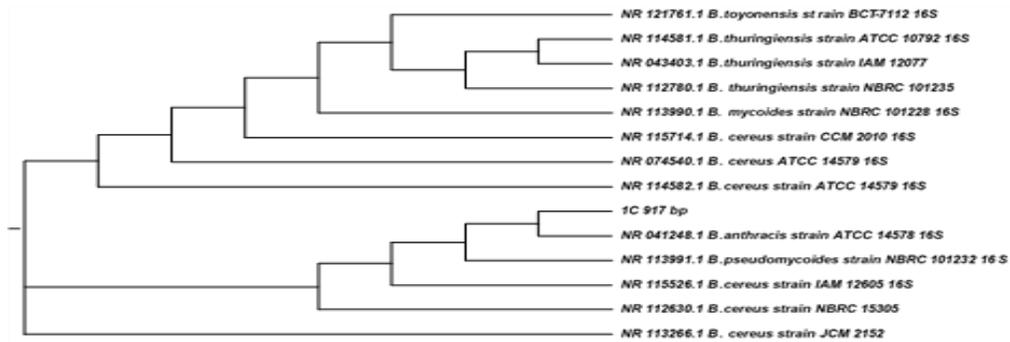
Tabel 6. Hasil MEGABLAST Sekuens Gen 16S rDNA

Isolat	Blast Vs Bakteri Isolat (Strain)	Query Coverage	Max Ident	Accession
1A	<i>B. cereus</i> ATCC 14579 16S Vs Isolat 1A	100%	100%	[NR074540.1]
1B	<i>B. cereus</i> ATCC 14579 16S Vs Isolat 1B	100%	99%	[NR114582.1]
1C	<i>B. anthracis</i> strain ATCC 14578 16S Vs Isolat 1C	97%	100%	[NR041248]
2D	<i>B. methylotrophicus</i> strain CBMB205 16S vs Isolat 1D	99%	99%	[NR_116240.1]
1E	<i>B. thuringiensis</i> strin YBT-1518 vs Isolat 1E	99%	99%	
1F	<i>B. anthracis</i> strain ATCC 14578 16S 14579 Vs Isolat 1F	97%	100%	[NR041248]
1J	<i>B. pseudomycoides</i> strain NBRC Vs Isolat 1J	99%	99%	[NR113991.1]
2C	<i>B. anthracis</i> strain ATCC 14578 16S 14579 Vs Isolat 2C	99%	99%	[NR041248]
2D	<i>B. anthracis</i> strain C10 Vs Isolat 2D	100%	100%	[KX832689.1]
2G	<i>B. anthracis</i> strain C10 Vs Isolat 2G	99%	99%	[NR_113991.1]

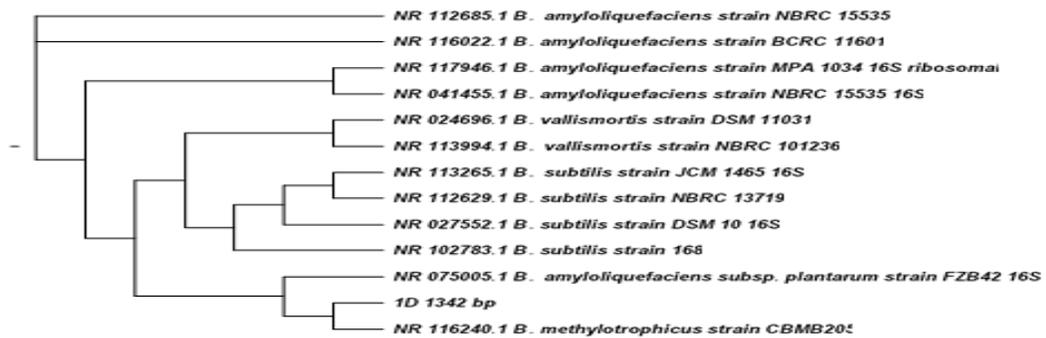
Dari hasil analisis blast dibuat pohon Filogenetik, merupakan pembuatan percabangan yang menghubungkan titik (*nodes*), yang merupakan unit taksonomi, seperti spesies atau gen. Akar pohon merupakan titik yang bertindak sebagai tetua (nenek moyang) untuk seluruh organisme yang sedang dianalisis (Adithiya, 2017).

Untuk mendapatkan pohon kekerabatan digunakan aplikasi Clustal X sebagai pengolah data dari hasil BLAST. Clustal X digunakan untuk mensejajarkan (*Allignment*) hasil skuens DNA sampel dari data base Gen Bank. Untuk memperoleh Pohon Filogenetik bias digunakan program N-J yang terdapat pada aplikasi Clustal X dengan tingkat 1000 x bootstrap.

Gambar 4. Pohon Kekerabatan (*Phylogenetic Trees*) Isolat Bakteri 1Gambar 5. Pohon Kekerabatan (*Phylogenetic Trees*) Isolat Bakteri 1B



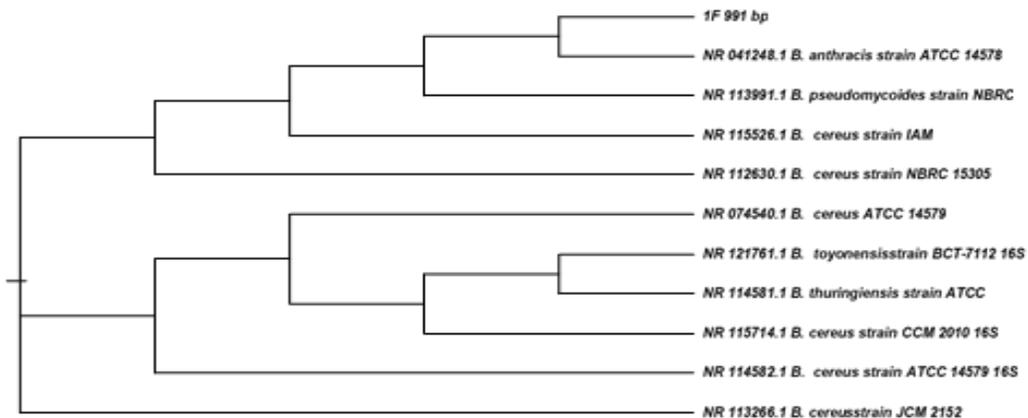
Gambar 5. Pohon Kekerabatan (Phylogenetic Trees) Isolat Bakteri 1C



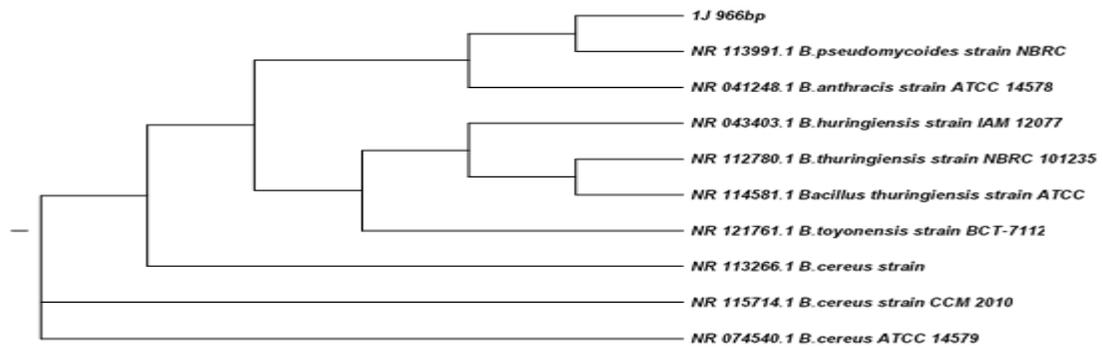
Gambar 7. Pohon Filogenetik Isolat 1D



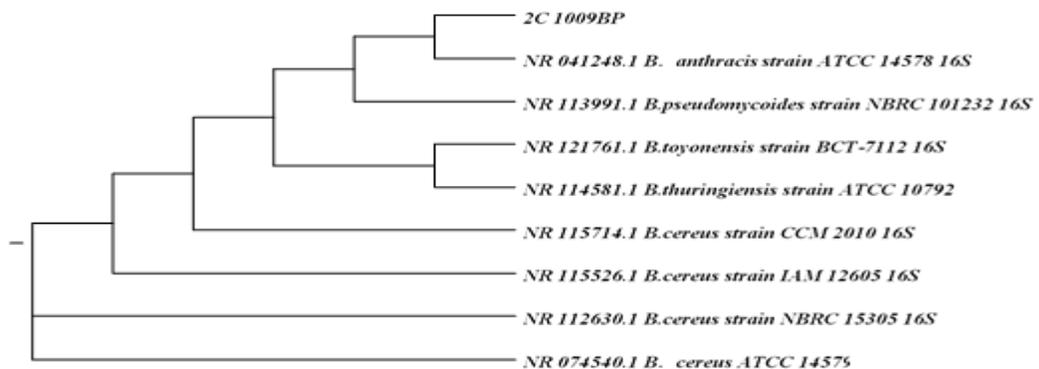
Gambar 8. Pohon Filogenetik Isolat 1E



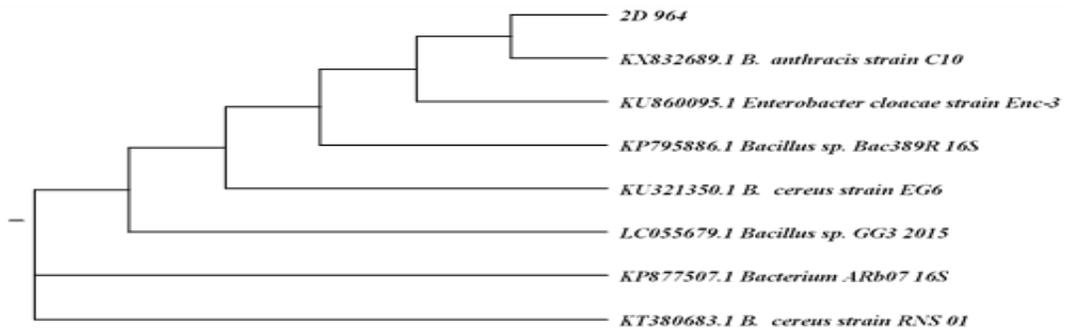
Gambar 9 . Pohon Filogenetik Isolat 1F



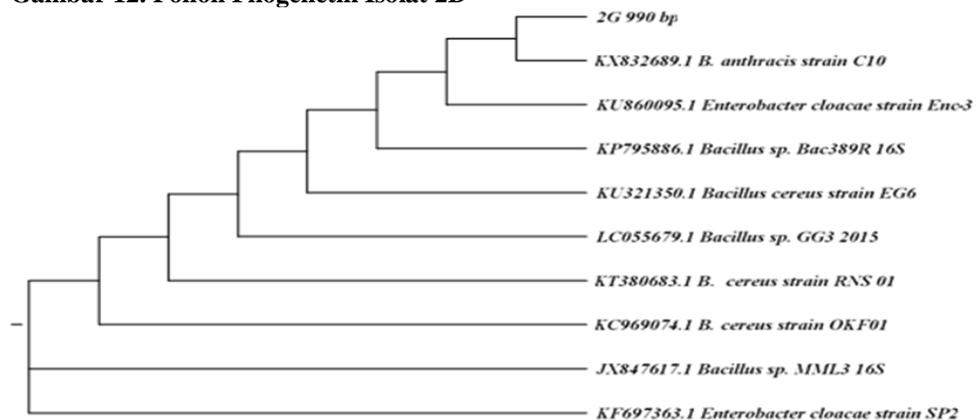
Gambar 10 . Pohon Filogenetik Isolat 1J



Gambar 11. Pohon Filogenetik Isolat 2C



Gambar 12. Pohon Filogenetik Isolat 2D



Anal Gambar 13. Pohon Filogenetik Isolat 2G

Dari hasil analisis sekuens (Tabel 6) isolat bakteri yang sudah di BLAST dibandingkan dengan beberapa jenis bakteri lain, ada beberapa bakteri pembandingan dari hasil BLAST dengan tingkat yang lebih tinggi seperti hasil Filogenetik (gambar 4). Hubungan kekerabatan masing-masing isolat seperti isolat 1A memiliki nilai homologi sebesar 100% terhadap *B. cereus* strain ATCC 14579, isolat 1B memiliki nilai homologi sebesar 99% terhadap *B. cereus* strain ATCC 14579, Isolat 1C memiliki nilai homologi sebesar 99% terhadap *Bacillus anthracis* strain ATCC 14578, isolat 1D memiliki nilai homologi sebesar 99% terhadap *B. methylotrophicus* strain CBMB205 16S, Isolat 1E memiliki nilai homologi 99% terhadap *B. thuringensis* strain YBT-1518, isolat 1F memiliki nilai homologi 100% terhadap *B. anthracis* strain ATCC 14578 16S, isolat 1J memiliki nilai homologi 99% terhadap bakteri *B. pseudomycoides* strain NBRC, isolat 2C memiliki nilai homologi 99% terhadap bakteri *B. anthracis* strain ATCC 14578 16s, isolat 2D memiliki nilai homologi 100% terhadap bakteri *B. anthracis* strain C10, dan 2G memiliki nilai homologi 99% dengan bakteri *B. anthracis* strain C10.

Dari hasil tersebut, maka dapat diketahui 10 isolat bakteri heterotrofik yang didapat di Muara Sungai Masjid Dumai merupakan genus bakteri *Bacillus*. Zona bening yang terbentuk merupakan penanda bahwa ketidakmampuan bakteri patogen untuk tumbuh didaerah sekitar cakram dan

bakteri *Bacillus* bersifat antagonis terhadap bakteri patogen. Zona bening yang terbentuk umumnya memiliki ukuran dengan kategori kuat.

Pada analisis DNA dihasilkan kemiripan homologi terhadap bakteri *Bacillus* yaitu *Bacillus Cereus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus Thuringensis*, *Bacillus pseudomycoides*. Bakteri *Bacillus* menghasilkan kekebalan dan antimikroba seperti bakteriosin (Sumardi *et al.*, 2012). Menurut Feliatra *et al.*, (2016) endospore yang di produksi *Bacillus* memiliki resistensi yang tinggi terhadap factor kimia dan fisika seperti suhu ekstrim, alkohol, 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 bahwa *Bacillus* berpotensi menghasilkan senyawa lipopeptida yang disebut basitrasin yang dapat membunuh bakteri patogen.

Bakteri *Bacillus cereus* adalah mikroorganisme pembentuk spora aerobik fakultatif yang berbentuk sel batang, bersifat motil dan tidak terpengaruh terhadap penicillin. *B. cereus* tumbuh pada suhu 7-49 °C dengan minimum 4-5°C dan maksimum sekitar 48-50°C. *B. cereus* adalah salah satu agnesia patogen yang mempunyai potensi besar digunakan sebagai pengendali hayati. Bakteri ini

mempunyai inang yang spesifik, tidak berbahaya bagi musuh alami hama dan organisme non target, mudah terbiodegrasi oleh lingkungan serta dapat dinaikkan patogenisitasnya dengan teknik rekayasa genetika (Khetan, 2001). *B. cereus* dapat tumbuh baik pada media Na yang diinkubasi pada suhu rata-rata 28°C.

*B. anthracis* yang termasuk genus *Bacillus*. *B. anthracis* merupakan bakteri berbentuk batang, aerobik, Gram positif, tidak berflagel, dengan ukuran k 1-1,5 kali 3-5 mikrometer. Pada sediaan yang berasal dari darah atau binatang terinfeksi, bakteri tampak berpasangan atau tunggal. Kapsul dibentuk pada jaringan terinfeksi, namun tidak in vitro kecuali dibiak di media yang mengandung bikarbonat dan dieram pada lingkungan 5-7% CO<sub>2</sub> (Tanzil, 2013).

*B. anthracis* mudah tumbuh pada berbagai media. Untuk mendapatkan koloni yang karakteristik, *B. anthracis* sebaiknya ditumbuhkan pada media yang mengandung darah tanpa antibiotika tumbuh subur pada pH media 7.0-7.4 dengan lingkungan aerob. Suhu pertumbuhan berkisar antara 12-45°C tetapi suhu optimumnya 37°C. Setelah masa inkubasi 24 jam, koloni bakteri tampak sebagai koloni yang besar, opak, putih-keabu-abuan dengan tepi tak beraturan. Di bawah mikroskop, koloni tersusun seperti susunan rambut sehingga sering disebut sebagai bentuk kaput medusa. Koloni bakteri bersifat sticky sehingga jika diangkat dengan sengkeli akan membentuk formasi seperti stalaktit

(*beaten egg-whites appearance*) (Tanzil, 2013).

Menurut Jawetz (2010), *B. anthracis* tidak menyebabkan hemolisis darah domba dan reaksi katalasanya positif. *B. anthracis* mampu menghasilkan glukosa dan menghidrolisa gelatin tetapi tidak menghasilkan manitol, arabinosa dan xilosa. Karena menghasilkan lesitinasa, maka *B. anthracis* yang ditumbuhkan pada media EYA (*Egg-Yolk Agar*) akan membentuk zona opak. Toksin bakteri antraks pada inang akan menyebabkan kematian fagosit, edema, kematian jaringan, dan perdarahan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (GeB *et al.*, 2016) *Bacillus methylotrophicus* memiliki bentuk koloni tipis, putih, buram, dan bundar dengan tepi yang halus, bersifat Gram-Positif, bentuk seperti batang pendek dengan sel 0,6-0,9 × 2,1-3,2 µm. Koloni halus pada media LB dan berkerut pada media NA atau PDA. Positif untuk deteksi VP, hidrolisis pati, dan hidrolisis esculin. *B. methylotrophicus* dapat memanfaatkan sitrat, urea, tirosin, xilosa, dekstrosa, glukosa, fruktosa, manitol, dan galaktosa.

*B. methylotrophicus* berpotensi sebagai agen biokontrol tanaman seperti beras dan tomat, dikarenakan memiliki potensi untuk mendegradasi asam ferulic dan dampak antioksidan dan aktivasi enzimatik rhizosfer dan kemampuannya untuk nitrifikasi heterotrofik-aerobik denitrifikasi yang efisien.

*B. thuringiensis*, merupakan famili bakteri yang memproduksi kristal protein di inclusion body-nya pada saat ia bersporulasi. Bioinsektisida *B. thuringiensis* merupakan 90-95% dari bioinsektisida yang dikomersialkan untuk dipakai oleh petani di berbagai Negara. *B. thuringiensis* merupakan bakteri gram-positif berbentuk batang. Jika nutrisi di mana dia hidup sangat kaya, maka bakteri ini hanya tumbuh pada fase vegetatif, namun bila suplai makanannya menu-run maka membentuk spora dorman yang mengandung satu atau lebih jenis Kristal protein. Kristal ini mengandung protein yang disebut  $\delta$ -endotoksin, yang bersifat lethal jika dimakan oleh serangga yang peka (Bahagiawati, 2002).

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

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian di dapat sepuluh (10) isolat bakteri heterotrofik memiliki kemampuan antagonis terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Dari hasil uji diperoleh bahwasannya

isolat 1B tergolong katagori hambat kuat terhadap bakteri *V. alginolyticus*. Isolat bakteri yang memiliki daya hambat sedang yaitu isolat 1A dan 1B terhadap bakteri *V. alginolyticus*, isolat 1 E dan 1D terhadap bakteri *A. hydrophila*, dan 1A dan 2G terhadap bakteri *P. stutzeri* 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, Isolat 1A dan 1B merupakan kelompok dari *Bacillus cereus* ATCC 14579 16S, isolat 1C, 1F dan 1G merupakan kelompok dari *Bacillus anthracis* strain ATCC 14578 16S, isolat 1D merupakan kelompok dari *Bacillus methylotrophicus* strain CBMB205 16S, isolat 1E merupakan kelompok bakteri *Bacillus thuringensis* strain YBT-1518, Isolat 1J merupakan bakteri kelompok *Bacillus pseudomycooides* strain NBRC, isolate 2D dan 2 G Merupakan kelompok bakteri *Bacillus anthracis* strain C10.

### Saran

Pada Penelitian selanjutnya disarankan adanya uji lanjut terhadap bakteri patogen lain seperti uji kemampuan dan uji metabolit baik primer maupun sekunder.

### Daftar Pustaka

Adithiya, S.M., Feliatra, and A.Tanjung, 2017. Using of Bacteria Heterotrophic as an Anti-Bacterial Against Pathogenic Bacteria Isolated from Sea Water in Dumai City,

- Riau Province. *Jurnal Online Mahasiswa*. 3(2): 1-17.
- Bahagiawati, 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin AgroBio* 5(1):21-28.
- Feliatra, 2010. Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Laut. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Feliatra, Y. Fitria, and 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, F., I. Lukistyowati, D. Yoswaty, R. Haqqy, M. Deasy, H. Wahid, T.N. Titania, R.F. Andi, and Y. Rofiza, 2016. Phylogenetic Analysis to Compare Populations of Acid Tolerant Bacteria Isolatd from the Gastrointestinal Tract of Two Different Prawn Species *Macrobrachium rosenbergii* and *Penaeus monodon*. *AACL Bioflux*. 9(2) 360-368.
- Ge B., B. Liu, T.T. Nwet, W. Zhao., L. Shi, and K. Zhang, 2016. *Bacillus methylotrophicus* Strain NKG-1, Isolatd from Changbai Mountain, China, Has Potential Applications as a Biofertilizer or Biocontrol Agent. *Plos One* 11(11): e0166079.  
doi:10.1371/journal.pone.0166079.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, dan E. Adelberg, 2005. Jakarta: EGC  
Jawetz, melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran.
- Jawetz E., J.L. Melnick, E. and A. Adelberg, 2010. Medical Microbiology, 25<sup>th</sup> ed, *Mc Graw Hill*, New York.
- Kurnarso, D.H. dan T.I. Agustin. 2012. Kajian Bakteri Heterotrofik Diperairan Laut Halmahera. *Ilmu Kelautan*. 17(2): 63-73.
- Logan, N.A. and P.D. Vos, 2009. Genus I. *Bacillus* in Bergey,s Manua of Systemic Bacteriology Vol 3. *Springer* New York. Pp 21-128.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, D.A. Stahl, and D.P. Clark, 2012. Biology of Microorganism. 13<sup>th</sup> ed. San Francisco: *Pearson*. P. 140-141.
- Mambang, D., P. Elysa, Rosidah, dan D. Suryanto, 2014. Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *J. Teknologi dan Industri Pangan*. 25(1): 115-118.
- Sumardi, S., C.N. Ekowat, K. Handayani, dan N. Nurhayati, 2012. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). [Prosiding] SNSMAIP III. ISBN 978-602-98559-1-3
- Susana, M., Feliatra, dan I. Lukistyowati, 2017. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Heterotrofik pada Perairan Laut Kawasan Pemukiman dan Perairan Bersalinitas Rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi Riau. *Jurnal Online Mahasiswa*. 3(2): 1-16.

Tanzil, K., 2013. Aspek Bakteriologi Penyakit Antraks. *Jurnal Ilmiah widya Kesehatan dan Lingkungan*. 1(1): 1-5.

Tortora G.J., B.R. Funke, and C.L. Case, 2010. *Microbiology: An Introduction*. 10th ed. California. Benjamin and Cummings.