

Isolasi, Identifikasi dan Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik pada Tumbuhan Mangrove terhadap Bakteri Patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, dan *Pseudomonas* sp)

Isolation, Identification and Antagonism Test of Heterotrophic Bacteria in Mangrove Plants Against Pathogenic Bacteria (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, and *Pseudomonas* sp.)

Dinny Afriza^{1*}, Irwan Effendi², dan Yusni Ikhwan Siregar²

¹Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

*Email: afrizadinny@gmail.com

Abstrak

Diterima
25 Januari 2019

Disetujui
15 April 2019

Bakteri heterotrofik adalah bakteri yang mampu memanfaatkan bahan organik sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri heterotrofik hidup dan memiliki peranan yang penting di ekosistem perairan. Bakteri patogen *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, dan *Pseudomonas* sp adalah bakteri patogen terhadap ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, menguji kemampuan bakteri sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan mengetahui karakteristik bakteri heterotrofik dengan sekuens 16S rRNA. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2019 yang bertempat di Kawasan Mangrove Stasiun Kelautan Dumai, Provinsi Riau. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan 8 isolat bakteri murni yang digunakan untuk mengamati morfologi koloni bakteri, uji biokimia dan uji antagonisme terhadap bakteri patogen. Dari hasil uji antagonisme didapatkan 2 isolat terbaik untuk dilakukan analisis DNA. Hasil analisis DNA dengan metode PCR 16S rRNA dan analisis BLAST yaitu *Bacillus amyloliquefaciens* strain SH20 dan *Bacillus cereus* strain NY180.

Kata kunci: Bakteri Heterotrofik, Antagonisme, Sekuens 16S rRNA, Bakteri Patogen

Abstract

Heterotrophic bacteria are bacteria that are able to utilize organic matter as a source of carbon and energy. Heterotrophic bacteria live and have an important role in aquatic ecosystems. Pathogenic bacteria *V. alginolyticus*, *A. hydrophila* and *Pseudomonas* sp are pathogenic bacteria against fish. This study aims to isolate, identify, test the ability of the bacteria as antibacterial against pathogenic bacteria and determine the characteristics of heterotrophic bacteria using 16S rRNA sequences. This research was conducted from January to March 2019 which took place in the Mangrove Area in the Marine Station Dumai, Riau Province. Based on the results of the research that has been done, it was obtained 8 pure bacterial isolates used to observe the morphology of bacterial colonies, biochemical tests and antagonism tests against pathogenic bacteria. Based on the results of the antagonism test, it was obtained the best 2 isolates for DNA analysis. The results of DNA analysis using PCR 16S rRNA method and BLAST analysis were *Bacillus amyloliquefaciens* strain SH20, and *Bacillus cereus* strain NY180.

Keyword: Heterotrophic bacteria, antagonism, sequence 16S rRNA, pathogenic bacteria

1. Pendahuluan

Hutan mangrove merupakan komunitas vegetasi pantai tropis, didominasi oleh beberapa jenis pohon mangrove yang mampu tumbuh dan berkembang pada daerah pasang-surut dan pantai berlumpur (Bengen, 2001). Ekosistem ini mempunyai sifat yang unik dan khas, dengan fungsi dan manfaat yang beranekaragam bagi manusia serta makhluk hidup lainnya

Kawasan *Marine Station* Universitas Riau berada didekat muara Sungai Mesjid dengan kondisi vegetasi mangrove yang masih baik dengan kerapatan yang relatif tinggi. Jenis vegetasi mangrove di Dumai, khususnya di Stasiun Kelautan Dumai adalah 10 jenis, meliputi *Rhizophora apiculata*, *R. mucronata*, *Xylocarpus granatum*, *Avicennia marina*, *Sonneratia alba*, *Bruguiera gymnorrhiza*, *B. Cylindria*, *Scyphophora hydrophyllacea*, *Ceriops tagal* dan *Lumnitzera littorea* (Hamidy, 2002).

Bakteri heterotrofik memiliki peran sebagai perombak dan mampu remineralisasi bahan-bahan organik menjadi komponen anorganik sederhana yang dikembalikan ke dalam tanah dan atmosfer sebagai hara. Keberadaan mikroorganisme tersebut ada yang bermanfaat bagi kehidupan manusia, tetapi banyak pula yang merugikan manusia misalnya dapat menimbulkan berbagai penyakit atau bahkan dapat menimbulkan kerusakan akibat kontaminasi. Menurut Feliatra *et al.* (2012) kehadiran jenis bakteri patogen seperti *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., dan *Pseudomonas* sp. akan menyebabkan penyakit pada ikan budidaya sehingga perlu diantisipasi untuk pencegahannya.

Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk mencegah bakteri patogen yang menginfeksi ikan yaitu dengan menggunakan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tanaman, hewan atau dihasilkan oleh mikroba yang umumnya dikenal dengan istilah biopreservatif. Dari penjelasan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Isolasi, Identifikasi dan Uji Antagonisme Bakteri Heterotrofik pada Tumbuhan Mangrove Terhadap Bakteri Patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, dan *Pseudomonas* sp).

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan menguji kemampuan bakteri sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan mengetahui karakteristik bakteri heterotrofik dengan sekuens 16S rRNA.

2. Bahan dan Metode

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari - Maret 2019. Pengambilan sampel dilakukan pada lapukan tumbuhan mangrove yang ada di Kawasan Mangrove Stasiun Kelautan Dumai, Provinsi Riau. Kegiatan analisis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan. Identifikasi DNA dilakukan di Laboratorium Molekuler Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

2.2. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei, yaitu dengan melakukan isolasi bakteri heterotrof dari lapukan tumbuhan mangrove pada media NA. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*) dan purifikasi dilakukan dengan menggunakan metode gores (*streak kuadran*).

Identifikasi dilakukan melalui pengamatan morfologi makroskopis (warna, bentuk, tepian dan elevasi koloni) dan mikroskopis (dengan melakukan pewarnaan gram, uji motilitas, uji oksidase, uji indol, uji katalase, uji citrat, uji gula, uji antagonisme dan uji DNA). Data yang diperoleh dibahas secara deskriptif.

2.3. Pengambilan Sample

Sampel diambil dari Kawasan Mangrove Stasiun Kelautan Dumai, Provinsi Riau. Sampel di ambil menggunakan parang. Sampel lapukan yang di ambil ialah pada bagian batang yang mengalami pelapukan. Sampel lapukan pada tumbuhan mangrove diambil dari beberapa jenis mangrove yang ada di kawasan mangrove kota Dumai. Sampel yang sudah di ambil dimasukkan ke dalam plastik sampel dan diberi label.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Perhitungan Jumlah Bakteri Heterotrofik

Bakteri yang tumbuh pada media NA dihitung kepadatannya dengan metode TPC. Hasil perhitungan bakteri heterotrofik dari empat sampel, menunjukkan bahwa pada sampel *R. apiculata* mengandung bakteri heterotrofik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah bakteri pada sampel yg lainnya. Rata-rata jumlah bakteri heterotrofik dari empat sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Sel Bakteri Heterotrofik

Sampel	Rata-rata Jumlah Bakteri (cfu/ml)
<i>Acanthus ilicifolius</i>	$6,38 \times 10^6$
<i>Nypa fruticans</i>	$4,50 \times 10^6$
<i>Rhizopora apiculata</i>	$7,94 \times 10^6$
<i>Xylocarpus granatum</i>	$3,22 \times 10^6$

Salah satu faktor yang mempengaruhi jumlah bakteri heterotrofik ialah 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).

3.2. Uji Biokimia

Hasil identifikasi koloni dan uji biokimia isolat 1 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut : bentuk koloni bundar, warna putih susu, tepian licin, elevasi datar, bersifat gram positif, katalase positif, inmotil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 2 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut : bentuk koloni bundar, warna putih susu, tepian licin, elevasi timbul, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Isolat 3 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk koloni tak beraturan dan menyebar, warna putih susu, tepian berombak, elevasi timbul, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 4 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk koloni bundar, warna putih susu, tepian licin, elevasi datar, bersifat gram positif, katalase positif, motil, dan tidak membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Isolat 5 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk koloni tak beraturan dan menyebar, warna putih susu, tepian tak beraturan, elevasi datar, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 6 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk bundar, warna putih kekuningan, tepian berombak, elevasi datar, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Isolat 7 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk koloni bundar, warna putih kekuningan, tepian licin, elevasi timbul, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Isolat 8 memiliki ciri-ciri morfologi bentuk tak beraturan dan menyebar, warna putih susu, tepian tidak beraturan, elevasi datar, bersifat Gram positif, katalase positif, motil, tidak dapat membentuk indol, tidak menghasilkan gas sulfida dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

3.3. Uji Antagonisme

Dilihat dari respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, menunjukkan bahwa semua isolat tergolong kategori rendah. Nilai daya hambat paling tinggi dengan rata-rata diameter 4,7 mm dan nilai daya hambat paling rendah dengan rata-rata 2,0 mm. Respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*,

menunjukkan bahwa isolat 7 memiliki respon hambat yang paling tinggi dengan rata-rata diameter 10,2 mm dan respon hambat lemah dengan rata-rata 2,3 mm.

Respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp. menunjukkan bahwa nilai daya hambat yang paling tinggi terdapat pada isolat 2 dengan rata-rata diameter 10,6 mm, dilihat dari baku mutu zona hambatnya termasuk katagori kuat. Untuk daya hambat yang tergolong rendah terdapat pada isolate 6 dan 8 dengan rata-rata diameter 2,7 mm. Berdasarkan uji antagonisme, isolat 2 dan 7 merupakan isolat yang memiliki nilai hambat tertinggi terhadap ketiga bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.).

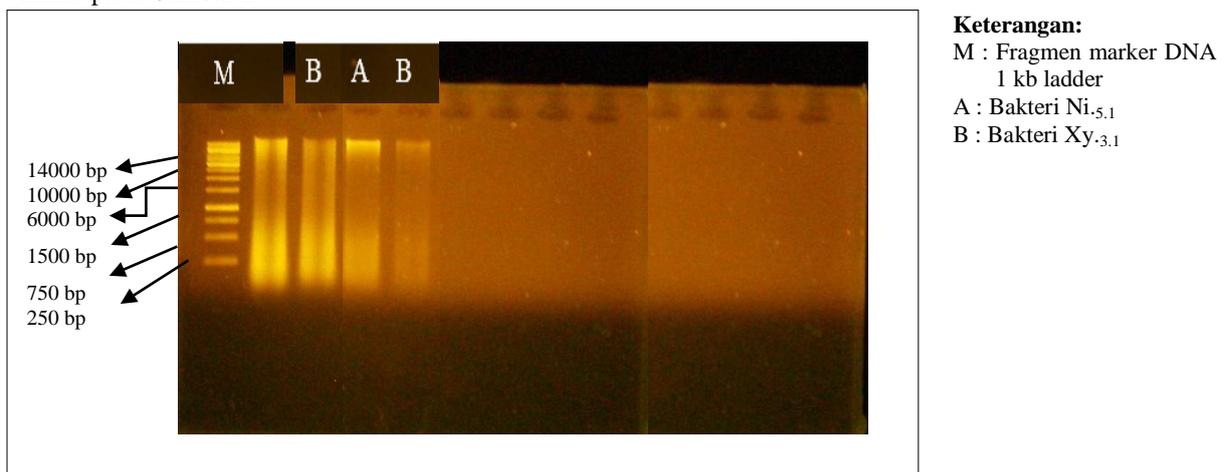
Menurut Greenwood *dalam* Susana (2017), bahwa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri apabila diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya sangat kuat, apabila diameter zona hambat berkisar antara 10-20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan kuat, 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.

Uji antagonis bakteri heterotrofik terhadap bakteri patogen menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap isolat. Perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan ini, diduga karena perbedaan kemampuan menghasilkan enzim antibakteri oleh masing-masing jenis bakteri heterotrofik. Elifah (2010), bahwa diameter hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar, jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri dari metabolik sekunder yang dihasilkan. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan faktor; produksi antibiotik, bakteriosin, siderophores, lisosom, protease dan hidrogen peroksida atau mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu.

Terbentuknya zona bening dikarenakan adanya penghambatan senyawa antimikroba terhadap sel-sel mikroba. Mekanisme kerja dari suatu senyawa antimikroba dapat dilakukan dengan cara mengganggu atau merusak penyusun dinding sel, bereaksi dengan membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas seluler, inaktivasi enzim-enzim esensial dan destruksi atau inaktivasi fungsi dan materi genetik (Sari *et al.*, 2013).

3.4. Hasil Ekstraksi DNA Total

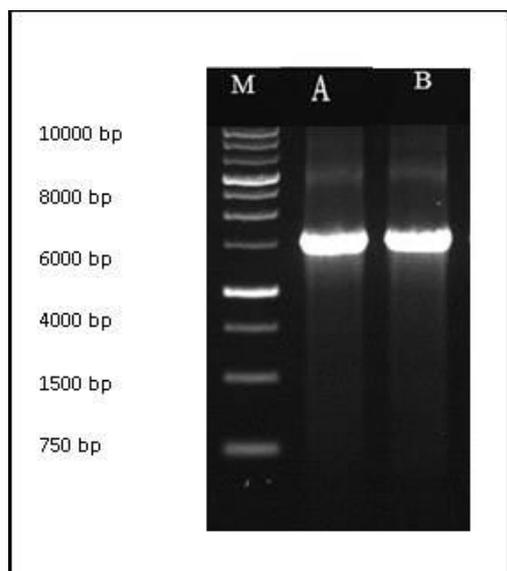
Hasil ekstraksi DNA total, dielektroforesis dengan 1 % gel agarose. Hasilnya ekstraksi DNA total dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Elektroforesis Ekstraksi DNA Total

Gambar 1 menunjukkan bahwa seluruh DNA total dari bakteri heterotrofik yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen, telah berhasil didapat, setelah melalui proses isolasi DNA, Lisis sel, DNA *binding* dan pencucian. Setelah DNA bakteri telah didapat kemudian dapat dilakukan uji PCR untuk proses selanjutnya. Dari hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 2 menunjukkan besarnya produk PCR yang menghasilkan pita tunggal adalah mendekati 1500 bp (*base pair*) sesuai dengan perbandingan menggunakan

marker DNA. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen-gen 16S rDNA bakteri yaitu 1500-1600 bp.



Keterangan:

- M : Fragmen marker DNA 1 kb ladder
- A : Bakteri Ni._{5.1}
- B : Bakteri Xy._{3.1}

Gambar 2. Produk PCR yang di Elektroforesis pada 1 % Gel Agarose

3.5. Analisis BLAST

Sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) merupakan suatu sistem untuk mencari nama spesies, presentase homologi DNA hasil sekuens dengan basis data yang sudah ada di *Gen Bank* melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Hasil identifikasi masing masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Rata-rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri Patogen

Nama Isolat	Diameter zona hambat (mm)											
	<i>V. alginolyticus</i>				<i>A. hydrophila</i>				<i>Pseudomonas</i> sp			
	(+)	R	±	SD	(+)	R	±	SD	(+)	R	±	SD
Ac.1.3	1,7	2,5	±	0,5	1,8	2,3	±	0,6	11,7	7,4	±	0,8
Ni.5.1	2,5	4,7	±	1,4	14,2	5,3	±	1,3	4,3	10,6	±	0,7
Rh.2.1	1,2	3,0	±	1,3	3,8	4,4	±	0,7	4,8	6,6	±	4,9
Rh.2.2	1,2	2,0	±	0,3	2,5	4,8	±	2,4	2,7	6,0	±	0,7
Rh.5.1	1,5	3,2	±	1,9	7,1	2,4	±	0,9	4,9	4,3	±	1,1
Xy.1.1	1,3	2,2	±	0,5	15,6	4,1	±	1,1	6,5	2,7	±	0,5
Xy.3.1	2,4	3,7	±	0,8	6,6	10,2	±	3,8	2,3	7,9	±	2,6
Xy.5.1	1,5	2,6	±	2,0	1,7	3,7	±	1,5	9,9	2,7	±	0,2

Dari hasil analisis BLAST dibuat pohon filogenetik (*Phylogenetic trees*) percabangan yang menghubungkan titik (nodes), yang merupakan unit taksonomi, seperti spesies atau gen; akar pohon merupakan titik yang bertindak sebagai tetua (nenek moyang) untuk seluruh organisme yang sedang dianalisis (Pranama, 2007).

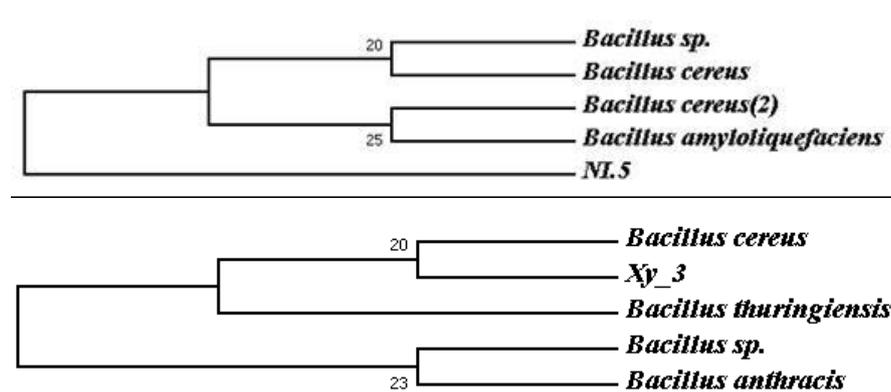
3.6. Analisis Sequens Bakteri

Berdasarkan dari 8 isolat bakteri terpilih 2 isolat bakteri terbaik untuk dianalisis filogenetik. Dapat dilihat pada Tabel 3. 10 isolat A (Ni._{5.1}) dan isolat B (Xy._{3.1}), merupakan isolat bakteri yang memiliki genus sama tapi berbeda spesies

Tabel 3. Hasil sekuen 16S rDNA isolat bakteri dengan sistem BLAST

Isolat	Spesies	Strain	Kode Akses	Homologi(%)
Ni. _{5.1}	<i>Bacillus myloliquefaciens</i>	SH20	KY362201.1	99 %
Xy. _{3.1}	<i>Bacillus cereus</i>	NY180	MK215791.1	100 %

Isolat yang mempunyai persamaan sekuen 16S rDNA lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama (Gambar 3). Persamaan sekuen 16S rDNA 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 gen bank (Hagstrom dalam Lusiano, 2007).



Gambar 3. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri Heterotrofik

1) *Bacillus amyloliquefaciens*

Hasil homologi sekuen 16S rDNA dari isolat bakteri Ni._{5.1} mempunyai kemiripan homologi dengan *B. amyloliquefaciens* strain SH20 dengan tingkat homologi sebesar 99%. Ini berarti tingkat homologinya dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Berdasarkan hasil penelusuran taxonomi yang tercantum di National Center for Biotechnology Informatika (NCBI), Klasifikasi *B. amyloliquefaciens* adalah sebagai berikut: Kingdom Bacteria, Phylum Firmicutes, Class Bacilli, Ordo Bacillales, Famili Bacillaceae, Genus *Bacillus* dan Spesies *B. Amyloliquefaciens*.

Bacillus amyloliquefaciens merupakan spesies bakteri dalam genus *Bacillus* yang merupakan sumber dari BamH1 enzim restriksi. Hal ini juga mensintesis alami antibiotik protein barnase, yang dipelajari secara luas ribonuklease yang membentuk kompleks terkenal ketat dengan perusahaan intraseluler inhibitor barstar, dan plantazolicin, antibiotik dengan aktivitas selektif terhadap *Bacillus anthracis*. Penemuan dan nama *B. amyloliquefaciens* ditemukan dalam tanah tahun 1943 oleh seorang ilmuwan Jepang bernama Fukumoto, yang memberikan bakteri namanya karena diproduksi (faciens) yang mencairkannya (lique) amilase (amylo). Penggunaan Alpha amilase dari *B. amyloliquefaciens* sering digunakan dalam pati hidrolisis. Ini juga merupakan sumber Subtilisin, yang mengkatalisis pemecahan protein dalam cara yang mirip dengan tripsin. Status sebagai spesies Antara tahun 1940-an dan 1980-an, ahli bakteri berdebat apakah atau tidak *B. amyloliquefaciens* adalah spesies terpisah atau subspecies dari *Bacillus subtilis*.

Bacillus amyloliquefacien merupakan salah satu bakteri yang dapat menghasilkan amilase. Alpha amilase dapat disolasi dari bakteri *B. amyloliquefaciens* yang mempunyai berat molekul kira-kira 50 kDa. *B. amyloliquefaciens* merupakan bakteri yang termasuk dalam golongan spesies *Bacillus*. *B. amyloliquefaciens* banyak dikenal karena memiliki sifat katabolik dan kemampuannya dalam mendegradasi makromolekul yang kompleks (Gangadharan *et al.*, 2006). Bakteri ini mempunyai sifat yang termofilik (tahan terhadap suhu yang tinggi). Kemampuan isolat untuk menghasilkan antibiotik telah ditemukan oleh beberapa peneliti. *B. amyloliquefaciens* strain B94 menghasilkan iturin A yang digunakan sebagai biokontrol untuk menekan jamur mengganggu tanaman *Rhizoctonia solani* (Yu., Et al, 2002). *B. amyloliquefaciens* adalah spesies dalam genus *Bacillus* yang merupakan sumber enzim restriksi BamH1. Mikroba ini juga mensintesis antibiotik protein barnase alami, yang secara luas dikenal sebagai ribonuklease yang membentuk kompleks yang terkenal sebagai antibiotik dengan aktivitas selektif melawan *Bacillus anthracis*.

2) *Bacillus cereus*

Hasil homologi sekuen 16S rDNA dari isolat bakteri Xy._{3.1} mempunyai kemiripan homologi dengan *B. cereus* strain NY180 dengan tingkat homologi sebesar 100%. Ini berarti tingkat homologinya dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Berdasarkan hasil penelusuran taksonomi yang tercantum di *National Center for Biotechnology Informatika* (NCBI), Klasifikasi *B. cereus* adalah sebagai berikut: Kingdom Bacteria, Phylum Firmicutes, Class Bacilli, Ordo Bacillales, Famili Bacillaceae, Genus *Bacillus*, dan Spesies *B. cereus*. Hasil isolasi dari tiram *Saccostrea Cucullata* juga menemukan bakteri *B. cereus* strain SU12 sebagai penghasil protease (Umayaparvathi, 2013).

Bacillus cereus adalah bakteri pembentuk spora yang tergolong ke dalam famili Bacillaceae. Spora *B. cereus* tahan terhadap panas dan radiasi. Bakteri ini bersifat aerobik sampai anaerobic fakultatif, katalase positif dan merupakan bakteri gram positif berbentuk batang. *B. cereus* termasuk salah satu organisme mesofilik. *B. cereus* dapat tumbuh dengan baik pada media NA yang diinkubasi dengan suhu rata-rata 28,8°C. Susana (2017), bakteri *B. cereus* mampu menghasilkan senyawa antimikroba dan dapat menghambat bakteri patogen yaitu *V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada saat uji antagonis. Kemampuan ini diduga karena bakteri dari jenis ini menghasilkan senyawa antibiotik. Senyawa ini merupakan kumpulan zat-zat kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme diantaranya oleh fungi dan bakteri yang memiliki fungsi menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain.

Nishijima *et al.* (2005) menyatakan bahwa spesies *Bacillus* menghasilkan sedikitnya 66 jenis antibiotik dan strain tertentu dari *Bacillus* merupakan agen biokontrol. Zidour *et al.* (2017) menyatakan bahwa jenis metabolit sekunder yang dihasilkan dari bakteri laut sebagai senyawa antimikroba, dari *B. pumilus* adalah Amoniumasin dan Xiu *et al.* (2017) memperoleh Pumilacidin dari *Bacillus* sp.

Bakteri *B. cereus* sering dipakai dalam penelitian yang berkaitan dengan probiotik. Probiotik yang digunakan pada mikroorganisme hidup yang dapat memberikan efek baik atau menguntungkan pada organisme lain atau inangnya. Umoro (2016), bakteri *B. cereus* digunakan sebagai probiotik pada budidaya perikanan yang diambil dari saluran pencernaan karena bakteri ini memiliki zat antimikroba yaitu bakteriosin. Drieder *et al.* (2006), bakteriosin merupakan senyawa antimikroba polipeptida yang disintesis di ribosom oleh bakteri Gram positif atau Gram negatif. Umoro (2016) menyatakan senyawa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri berbeda-beda pada setiap jenis bakteri. Pada bakteri jenis *B. cereus* senyawa bakteriosin yang dihasilkan yaitu Cerein GN105, Cerein 7A dan Cerein 7B. Panunjang *et al.* (2015) menyatakan bakteri dari jenis ini tidak hanya dijumpai di tanah, air, makanan fermentasi tetapi juga ditemukan di perairan pantai.

4. Kesimpulan

Hasil perhitungan bakteri heterotrofik dari empat sampel, menunjukkan bahwa pada sampel *R. apiculata* memiliki jumlah bakteri heterotrofik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah bakteri pada sampel yg lainnya dimana pada sampel *X. granatum* memiliki jumlah bakteri yang lebih rendah. Pengamatan sifat biokimia menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bersifat Gram positif, katalase positif, indol positif, sulfide negatif dan pada uji penggunaan gula semua isolat dapat memfermentasikan glukosa, sukrosa dan laktosa. Pada uji motilitas yang bersifat inmotil yaitu isolat Ac.1.3. Pada uji citrate isolate bakteri yang bersifat citrate positif yaitu Ac.1.3.

Pada uji antagonis terhadap bakteri *V. alginolyticus* semua isolat termasuk kategori lemah. Pada uji antagonis terhadap bakteri *A. hydrophila* terdapat isolat kategori kuat yaitu Xy.3.1, isolat kategori sedang Ni.5.1 dan yang lainnya termasuk kategori lemah. Pada uji antagonis terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. terdapat isolat kategori kuat yaitu Ni.5.1, isolat kategori sedang yaitu Ac.1.3, Rh.2.1, Rh.2.2, Xy.3.1 dan yang lainnya termasuk kategori lemah. Melalui uji DNA diketahui bahwa jenis bakteri heterotrofik ditemukan antara lain, *B. amyloliquefacien* dan *B. cereus*.

5. Referensi

Bengen, D.G. 2001. Ekosistem dan Sumberdaya Pesisir dan Laut serta Pengelolaan Secara Terpadu dan Berkelanjutan. Prosiding pelatihan pengelolaan wilayah pesisir terpadu. Bogor, 29 Oktober – 3 November 2001.

- Drider, D., G. Fimland, Y. Hechard, M. McMullen, and H. Prevost. 2006. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol Mol Biol Rev.* 70(2): 564-582.
- Elifah. E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D.) terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. [Skripsi]. Surakarta: UNS.
- 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.
- Gangadharan. D., S. Sivaramakrishnan., K.M. Nampoothiri dan A. Pandey. 2006. Solid Culturing of *Bacillus amyloliquefaciens* for Alpha Amylase Production. *Biotechnol.* 44 (2)269–274. Trivandrum, India.
- Hamidy. R. 2002. *Transpor materi dari serasah mangrove dengan kajian khusus pada peran kepiting Brachyura*. Disertasi ITB bandung.
- Lusiano. A. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidro karbono klastik dengan Sekuens 16S rDNA dari Sedimen Perairan Dumai. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru
- Nishijima, T., K. Toyota and M. Mochizuki. 2005. Predominant culturable Bacillus species in Japanese arable soils and their potential as biocontrol agents. *Microbes and Environments.* 20(1): 61-68.
- Pananjung. A., M. S. Ulfa., E. U. Senjarini., K. Arimurti., 2015. Karakterisasi Isolat Bakteri Fibrinolitik Wu 021055 Asal Perairan Pantai Papuma, Jember. *J. Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 2 (1): 1-8
- Pramana. 2007. Phylogeny as a Central Principle in Taxonomy: Phylogenetic Definitions of Taxon Names. *Syst Zool* 39: 307-322.
- Salmin, 2000. Kadar Oksigen Terlarut di Perairan Sungai Dadap, Goba, Muara, Karang dan Teluk Banten. Dalam : Foraminifera Sebagai Bioindikator Pencemaran. *Oseana.* 3: 21 -26.
- Sari. Y.N.M., S. Sumyarti dan Jamsari. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Berpotensi Sebagai Antimikroba dari Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis var.flavicarfa*). *Jurnal Kimia Unand,* 2(2).
- Susana. M. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Heterotrofik pada Perairan Laut Kawasan Pemukiman dan Perairan Bersalinitas Rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru
- Umayaparvathi, S. 2013. Purification and characterization of protease from Bacillus cereus SU12 isolated from oyster Saccostrea cucullata. *African Journal of Biotechnology.* 12(40), 5897-5908.
- Umoro. A. 2016. Isolasi *Bacillus* sp. Penghasil Bakteriosin dan Peningkatan Aktivasnya sebagai Penghambat *Vibrio harveyi*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Xiu. P., R. Liu., D. Zhang and C. Sun. 2017. Pumilacidin like lipopeptides derived from marine Bacterium Bacillus sp. Strain 176 suppress The motility of *Vibrio alginolyticus*. *Appl Environ Microbiol.* 83(12): 1-14.
- Yu. G. Y., J. B. Sinclair., G. L. Hartman, dan B. L. Bertagnolli. 2002. Produksi iturin A oleh *Bacillus amyloliquefaciens* menekan *Rhizoctonia solani*. *Biologi dan Biokimia Tanah.* 34(7): 955-963.
- Zidour. M., M. Chevalier, Y. Belguesmia, B. Cudennec, T. Grard, D. Drider, S. Souissi and C. Flahaut. 2017. Isolation and Characterization of Bacteria Colonizing Acartia Tonsa Copepod Eggs and Displaying Antagonist Effects Against *Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus* and other Pathogenic Strains. *Front Microbiol.* 6(8): 1919. doi: 10.3389/fmicb.2017.01919