

ISOLATION, IDENTIFICATION AND SENSITIVITY OF AMILOLYTIC BACTERIA FROM MANGROVE ECOSYSTEM SEDIMENT IN PURNAMA MARINE STATION DUMAI ON THE PATHOGENIC BACTERIA

Lamtiur Rotua Silitonga^{1*}, Nursyirwani², Irwan Effendi²

¹Student of The Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau, Pekanbaru

²Lecturer at The Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau, Pekanbaru

*lamtiurrotuasilitonga@gmail.com

ABSTRACT

Litter from the weathering of dead mangrove stems and leaves contains a lot of starch which has potential to be degraded by amylolytic bacteria into simple compounds with the help of the amylase enzyme. Amylolytic bacteria are bacteria that hydrolyze starch into simpler compounds namely glucose with the help of the amylase enzyme. This study aims to ¹⁾ isolate, identify and test sensitivity of amylolytic bacterial isolates found at the Purnama Dumai Marine Station, ²⁾ the ability of amylolytic bacterial isolates to inhibit the growth of pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio alginolyticus*) and ³⁾ to determine the of amylolytic bacterial species by 16S rRNA sequence analysis. The results showed 10 bacterial isolates (TR 2, TR 6, TR 7, TR 9, TR 11, TR 13, TR 15, TR 16, TR 18 and TR 20) were able to inhibit the growth of pathogenic bacteria (*E.coli*, *P.aeruginosa* and *V.alginolyticus*). The sensitivity test of isolate TR 20 against *E.coli* was categorized into weak with inhibition zone diameter of 4.65 mm. Sensitivity of isolate TR 6 against *P.aeruginosa* was categorized into medium with inhibition zone diameter of 5.22 mm. Then sensitivity of isolate TR 11 against *V.algynolyticus* was categorized into medium with inhibition zone diameter of 5.55 mm. DNA analysis using 16S rRNA method and BLAST analysis showed similarity of each isolate. Isolate TR 6 was similar to *Bacillus paramycoides* strain MCCC 1A04098, isolate TR 11 was in a group of *Enterobacter cloacae* strain ATCC 13047 and TR 20 was in a group of *Vibrio harveyi* strains of NBRC 15634.

Keywords: Amylolytic Bacteria, Sensitivity Test, Amylase Activity Test, 16S rRNA Sequence, Pathogenic Bacteria

I. PENDAHULUAN

Ekosistem mangrove merupakan ekosistem produktif. Produksi dan akumulasi bahan organik di sedimen ekosistem mangrove memungkinkan daerah ini kaya akan mikrobial yang potensial untuk dikembangkan sebagai sumber berbagai macam enzim ekstraseluler. Bakteri diisolasi dari sedimen mangrove merupakan sumber potensial

mikrobia untuk menghasilkan enzim amilase serta dimungkinkan untuk berbagai macam enzim ekstraseluler lainnya (Subagiyo *et al.*, 2017).

Keberadaan bakteri di ekosistem mangrove memiliki arti yang sangat penting dalam menguraikan serasah daun mangrove menjadi bahan organik yang digunakan sebagai sumber nutrisi bagi organisme yang mendiami hutan mangrove.

Hasil dari dekomposisi merupakan mineral dan unsur nutrisi yang sangat dibutuhkan bagi ekosistem mangrove dan pertumbuhan mangrove itu sendiri (Yahya *et al.*, 2014).

Mangrove yang mati secara alami maupun karena penebangan oleh manusia akan mengalami pelapukan. Dalam kulit batang mangrove terdapat amilum. Bakteri amilolitik dalam tanah mangrove berperan penting dalam proses degradasi amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menjadi nutrisi dalam tanah (Hastuti *et al.*, 2017).

Bakteri amilolitik mampu menghidrolisis amilum dengan bantuan enzim amilase. Enzim amilase memiliki peran penting dalam pengolahan limbah yang banyak mengandung amilum. Tanah merupakan tempat hidup yang paling ideal bagi bakteri dekomposer karena tanah mengandung bahan organik, anorganik dan mineral yang berlimpah kemungkinan hidup berbagai spesies bakteri amilolitik karena terkandung amilum. Amilum yang terdapat pada sedimen mangrove akan diuraikan oleh bakteri amilolitik menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa (Hansen *et al.*, 2017).

Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri patogen sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan hasil ikan budidaya. Penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah melalui luka ikan. Bakteri patogen merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit dan kematian pada ikan. Jenis bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat menimbulkan penyakit pada ikan budidaya sehingga perlu dilakukannya pencegahan terhadap bakteri patogen dalam menginfeksi ikan yang dibudidayakan dengan menggunakan senyawa antimikroba.

Untuk menentukan jenis bakteri amilolitik dari sedimen ekosistem mangrove dilakukan identifikasi. Metode terbaik menentukan taksonomi suatu

mikroorganisme adalah metode menggunakan hubungan kekerabatan DNA (genotip) dan karakterisasi fenotip dalam mengklasifikasi mikroorganisme adalah menggunakan analisis skuensing gen 16S rRNA. Teknik ini dilakukan dengan menganalisa struktur atau susunan basa nukleotida DNA yang terdapat di daerah 16S rRNA.

Dengan latar tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas Bakteri Amilolitik dari Sedimen Ekosistem Mangrove Stasiun Kelautan Purnama Dumai terhadap Bakteri Patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan uji sensitivitas isolat bakteri amilolitik yang ditemukan di Stasiun Kelautan Purnama Dumai, kemampuan isolat bakteri amilolitik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*E.coli*, *P.aeruginosa* dan *V.alginolyticus*) dan untuk mengetahui jenis/spesies bakteri amilolitik dengan analisis sekuen 16S rRNA.

2. METODE PENELITIAN

Uji Aktivitas Amilase

Visualisasi zona bening dilakukan dengan larutan iodin, pengamatan zona bening dan pengukurun bakteri amilolitik adalah perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni (Sudiana *et al.*, 2002).

$$\text{Zona Bening} = \text{Diameter Total} - \text{Diameter Koloni}$$

Bakteri amilolitik ditotol satu ose pada media Zobell 2216 E yang diperkaya dengan amilum (1%). Larutan lugol iodine 10% dituang ke atas kultur untuk identifikasi aktivitas amilase, adanya aktivitas enzim amilase ditunjukkan oleh terbentuknya zona jernih disekitar bakteri dengan latar belakang biru gelap.

Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri diidentifikasi secara morfologi dan biokimia. Pengamatan

morfologi meliputi bentuk sel, warna koloni, ukuran koloni, tepian dan elevasi koloni. Uji biokimia meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji citrat, uji gula dan uji sulfida (H_2S).

Uji Sensitivitas Terhadap Bakteri Patogen

Uji sensitivitas dilakukan dengan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*) mengacu pada prosedur menurut Wolf dan Gibbons *et al.* (1996). Masing-masing bakteri patogen *E.coli*, *P.aeruginosa* dan *V.alginolyticus* dikultur dalam media Zobell cair selama 24 jam. *Paper disc* steril ukuran 6 mm diletakkan di atas media Zobell agar yang telah terdapat bakteri patogen. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator. Kontrol positif *chloramphenicol* dan kontrol negatif Zobell cair 2216 E. Penghambatan terhadap bakteri patogen yang dibuktikan dengan adanya zona bening disekitar cakram.

Identifikasi Bakteri Amilolitik Secara Molekuler dengan Teknik 16S rRNA

Identifikasi secara molekuler menggunakan metode PCR 16S rRNA, sampel bakteri amilolitik diremajakan pada media NB terlebih dahulu. Kegiatan identifikasi secara molekuler ini dimulai dengan proses isolasi DNA bakteri amilolitik, selanjutnya dielektroforesis untuk melihat keberadaan dari DNA total bakteri. Setelah pita DNA didapat dilakukan proses PCR berguna untuk mereplikasi pita DNA hingga mencapai ± 1500 bp. Isolat DNA yang telah melalui proses PCR dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta Barat. Purifikasi dan sekuensing dilakukan pihak *First Base Malaysia*. Hasil sekuensing dilakukan analisis *BLAST* untuk melihat spesies bakteri yang didapat melalui penelusuran pada situs Genbank NCBI (<http://www.ncbi.nih.nlm.gov/>) kemudian dilihat tingkat homologinya terhadap *sequence*

bakteri yang terdaftar pada situs tersebut, data diolah dengan aplikasi Mega 6.0 dan bioedit.

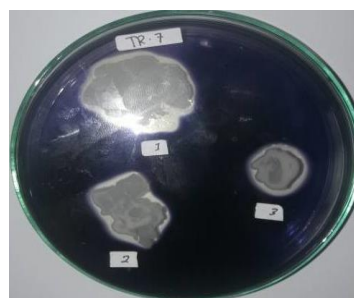
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Hasil kultur dan pemurniaan diperoleh 10 isolat bakteri yang berbeda berdasarkan pengamatan morfologi yakni : TR 2, TR 6, TR 7, TR 9, TR 11, TR 13, TR 15, TR 16, TR 18 dan TR 20. Hasil pengamatan morfologi koloni didapat bentuk koloni bulat dan tak beraturan. Tepian koloni bakteri licin, elevasi timbul dan warna bakteri bermacam-macam ada yang berwarna kuning, kuning pucat, kuning cerah, putih susu dan orange.

Uji Aktivitas Amilase Bakteri Amilolitik

Isolat bakteri yang menghasilkan amilase terlihat dari pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening 10 isolat bakteri amilolitik menunjukkan bahwa amilum yang di dalam media dihidrolisis oleh amilase menjadi senyawa yang sederhana. Diameter zona bening yang dibentuk berkisar antara 3,03 - 10,10 mm. Diameter zona bening terbesar pada isolat TR 20 dengan diameter zona bening 10,10 mm. Diameter zona bening terkecil pada isolat TR 2 dengan diameter zona bening 3,03 mm. Bagian media yang tetap berwarna biru tua menandakan lugol iodine tidak terhidrolisis oleh bakteri amilolitik (Gambar 1).



Gambar 1. Uji Aktivitas Amilase Bakteri Amilolitik

Aktivitas amilolitik adanya zona jernih di sekitar koloni bakteri pada media agar pati 1% yang dituangkan larutan iodin. Terbentuknya zona bening merupakan hasil aktivitas enzim amilase pada daerah tersebut. Zona bening yang terbentuk di sekeliling isolat setelah ditetesi larutan lugol iodin mengindikasikan bahwa enzim amilase diproduksi oleh isolat, sehingga di

daerah tersebut pati telah dihidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana. Sedangkan terbentuknya warna biru kehitaman disebabkan karena adanya reaksi antara larutan iodin dengan pati yang tidak terhidrolisis (Irdawati, 2015).

Aktivitas enzim amilase bakteri amilolitik dilihat pada Tabel 1.

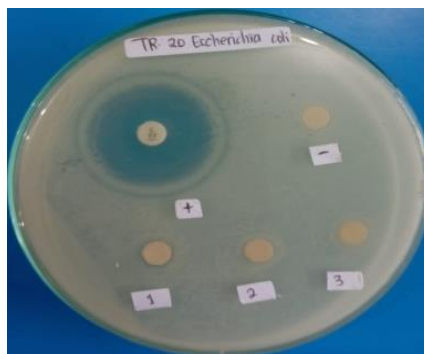
Tabel 1. Aktivitas Enzim Amilase Bakteri Amilolitik

Kode Isolat	Pengulangan			Rata-rata (mm)
	1	2	3	
TR 2	4,50	3,10	1,50	3,03
TR 6	10,30	9,60	7,20	9,03
TR 7	3,30	4,30	4,60	4,07
TR 9	8,70	6,60	6,80	7,37
TR 11	4,20	4,10	2,10	3,47
TR 13	8,50	10,70	8,30	9,17
TR 15	2,80	2,80	6,60	4,07
TR 16	2,70	3,90	3,70	3,43
TR 18	9,20	8,90	9,70	9,27
TR 20	8,60	11,00	10,70	10,10

Aktivitas Terhadap Bakteri Patogen

Hasil 10 isolat bakteri mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*E.coli*, *P.aeruginosa* dan *V.alginolyticus*) ditandai terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Uji sensitivitas pada bakteri *E.coli* isolat TR 20 termasuk kategori lemah dengan diameter zona hambat 4,65 mm. Uji sensitivitas pada bakteri *P.aeruginosa* isolat TR 6 termasuk kategori

sedang dengan diameter zona hambat 5,22 mm. Uji sensitivitas pada bakteri *V.alginolyticus* isolat TR 11 termasuk kategori sedang dengan diameter zona hambat 5,55 mm. Uji sensitivitas isolat TR 6, TR 11 dan TR 20 memiliki nilai hambat tertinggi terhadap ketiga bakteri patogen. Daya hambat bakteri amilolitik terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji Sensitivitas Bakteri Amilolitik Terhadap Bakteri Patogen

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.

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).

Noaman *et al.* (2014) menjelaskan bahwa beberapa faktor yang dapat mempengaruhi besar kecilnya aktivitas penghambatan zat antibakteri antara lain: 1) jenis, umur dari bakteri penghasil bakteriosin dan bakteri uji; 2) konsentrasi zat antimikroba dan jumlah inokulum atau kepadatan bakteri uji; 3) resistensi dari bakteri terhadap substansi zat antimikroba terkait dengan perbedaan dinding sel dari bakteri uji; dan 4) kadar substansi aktif atau gugus fungsi dari substansi senyawa antimikroba.

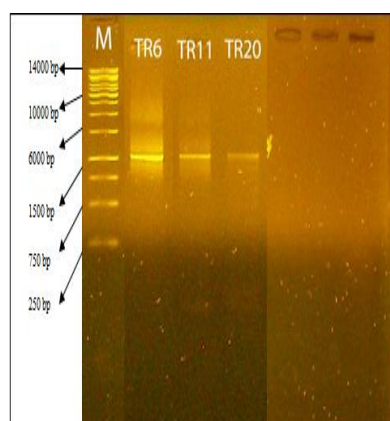
Tabel 2. Rata-rata Daya Hambat Bakteri Amilolitik terhadap Bakteri Patogen

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Vibrio alginolyticus</i>	
	(+)	R ± SD	(+)	R ± SD	(+)	R ± SD
TR 2	28,85	2,35 ± 0,95	21,75	1,85 ± 0,17	31,95	2,25 ± 0,46
TR 6	27,95	2,52 ± 0,21	18,45	5,22 ± 1,42	25,15	2,58 ± 0,64
TR 7	25,75	3,42 ± 1,72	19,95	3,55 ± 1,22	27,35	1,95 ± 2,60
TR 9	25,35	2,45 ± 1,78	18,85	3,38 ± 1,37	24,95	2,12 ± 0,57
TR 11	26,25	3,12 ± 0,64	20,55	1,72 ± 0,40	23,45	5,55 ± 1,47
TR 13	29,75	3,32 ± 1,40	18,15	1,92 ± 0,35	25,95	4,35 ± 0,17
TR 15	26,25	2,78 ± 0,91	18,85	2,32 ± 0,15	28,45	3,82 ± 0,15
TR 16	28,85	4,02 ± 0,80	19,25	2,68 ± 0,40	32,95	4,15 ± 0,70
TR 18	25,95	4,48 ± 0,25	24,25	2,22 ± 0,81	26,65	1,72 ± 0,55
TR 20	28,95	4,65 ± 1,08	15,65	3,08 ± 0,40	29,65	4,82 ± 1,21

Hasil Ekstraksi DNA Total

Hasil ekstraksi DNA total, dielektroforesis dengan 1 % gel agarose.

Hasilnya ekstraksi DNA total dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan :

M : Fragmen Marker DNA 1 kb ladder

TR 6 : Isolat Bakteri

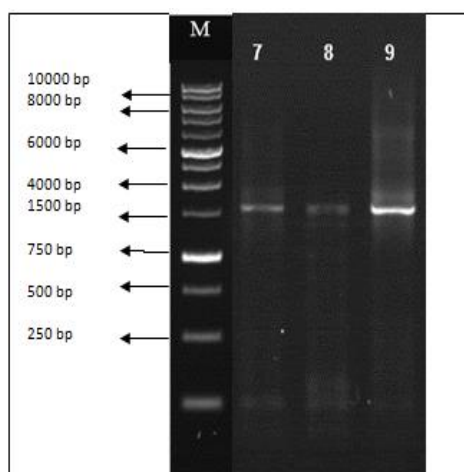
TR 11 : Isolat Bakteri

TR 20 : Isolat Bakteri

Gambar 3. Elektroforesis DNA Total

Hasil sampel DNA yang sudah diamplifikasi yang dielektroforesis dengan

1 % gel agarose dari ke 3 isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji PCR

Gambar 4 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 rRNA bakteri yaitu 1500-1600 bp.

Keterangan :

M : Fragmen marker DNA 1 kb ladder

7 : Bakteri Isolat TR 11

8 : Bakteri Isolat TR 20

9 : Bakteri Isolat TR 6

Analisis BLAST

Sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) merupakan suatu sistem untuk mencari nama spesies, presentase homologi DNA hasil sekuen dengan basis data yang sudah ada di *Gen Bank*. Hasil identifikasi masing masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dapat dilihat pada Tabel 3.

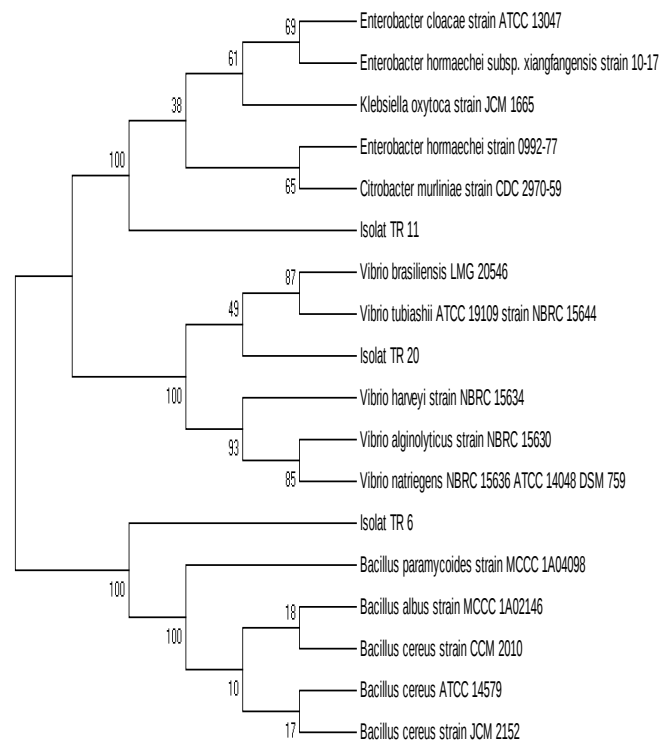
Tabel 3. Hasil sekuen 16S rRNA isolat bakteri dengan sistem BLAST

Isolat	Spesies	Strain	Kode Akses	Homologi (%)
TR 6	<i>Bacillus paramycoides</i>	MCCC 1A04098	NR 157734.1	95 %
TR 11	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	NR 118568.1	99 %
TR 20	<i>Vibrio harveyi</i>	NBRC 15634	NR 113784.1	96 %

Sumber : BLAST

Dari hasil analisis BLAST dibuat pohon filogenetik (*Phylogenetic trees*) percabangan yang menghubungkan titik (nodes), yang merupakan unit taksonomi, seperti spesies atau gen; akar pohon

merupakan titik yang bertindak sebagai tertua (nenek moyang) untuk seluruh organisme yang sedang dianalisis (Pramana, 2007).



Gambar 5. Pohon Filogenetik

Analisis Sekuen Bakteri

Berdasarkan dari uji sensitivitas bakteri amilolitik terhadap bakteri patogen 3 isolat terbaik yaitu isolat TR 6, TR 11 dan TR 20 untuk dianalisis DNA.

Isolat yang mempunyai persamaan sekuen 16S rRNA lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Persamaan sekuen 16S rRNA antara 93% - 97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Sedangkan jika dibawah 93% kemungkinan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum masuk dalam data base gen bank (Hagstrom dalam Lusiano, 2007).

i. *Bacillus paramycoides*

Hasil homologi sekuen 16S rRNA dari isolat bakteri TR 6 mempunyai kemiripan homologi dengan *Bacillus paramycoides* strain MCCC 1A04098 dengan tingkat homologi sebesar 95%. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Berdasarkan pohon filogenetik yang mengikutsertakan beberapa data

sekuen *GenBank*, pohon UPGMA berada pada satu cabang maupun node (genus) yang sama dengan bakteri *Bacillus paramycoides*.

Bacillus paramycoides Gram positif, anaerob fakultatif, nonmotil, berbentuk batang, lebar 0,8-1,2 μm dan 1,8-2,2 μm . Bentuk koloni adalah lilin, bundar, tidak tembus cahaya dan berdiameter 2-3 mm setelah inkubasi pada 32°C selama 48 jam. Katalase dan oksidase adalah positif. Pertumbuhan terjadi pada 15–39°C (30°C optimal), pada pH 5–9 (pH 7 optimal) dan dengan 0–5% (b/v) NaCl (optimum 0,5%). Hidrolisis pati, susu skim dan kasein. Dalam tes API 20E, positif untuk pemanfaatan sitrat, produksi aseton (*Voges-Proskauer*), gelatinase, dan produksi asam dari glukosa; negatif untuk b-galaktosidase, arginin dihidrolase, lisin dekarboksilase, ornitin dekarboksilase, produksi H₂S, urease, triptofan desaminase, produksi indole, dan produksi asam dari mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose,

sukrosa, melaminose, amingdalin (Liu *et al.*, 2017).

Bacillus paramycoides yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen karena merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang tebal, menghasilkan enterotoksin membentuk spora sehingga mampu bertahan hidup ditempat dengan kondisi yang buruk sekalipun dan menghasilkan enzim amilase dalam menghidrolisis amilum yang digunakan untuk nutrisinya.

ii. *Enterobacter cloacae*

Hasil homologi sekuen 16S rRNA dari isolat TR 11 mempunyai kemiripan homologi dengan *Enterobacter cloacae* strain ATCC 13047 dengan tingkat homologi sebesar 99%. Ini berarti tingkat homologinya dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Berdasarkan pohon filogenetik yang mengikutsertakan beberapa data sekuen *GenBank*, pohon UPGMA berada pada satu cabang maupun node (genus) yang sama dengan bakteri *Enterobacter cloacae*.

Enterobacter cloacae dideskripsikan untuk pertama kalinya pada tahun 1890 oleh Jordan. Di laboratorium mikrobiologi, *E. cloacae* sering ditanam pada suhu 30°C pada agar nutrisi atau kaldu atau pada suhu 35°C dalam kaldu kedelai tryptic. Ini adalah bakteri berbentuk batang, Gram-negatif, secara fakultatif anaerob, dan mengandung flagela peritrichous. Ini adalah oksidase-negatif dan katalase-positif (Streit *et al.*, 2004).

Bakteri *Enterobacter* sp yang memiliki enzim amilase yang berfungsi merombak amilum yang terdapat dalam pakan. Bakteri *Enterobacter cloacae* merupakan satu-satunya bakteri yang tidak patogen terhadap ikan karena tidak menghasilkan eksotoksin dan endotoksin namun menghasilkan enzim β -galaktosidase yang dapat merombak laktosa menjadi glukosa dan galaktosa yang mudah dicerna di dalam usus ikan. *Enterobacter cloacae* dapat menghambat pertumbuhan

bakteri patogen dengan aktivitas bakteriosin

Enterobacter cloacae memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri pada umumnya merupakan metabolit sekunder yang tidak digunakan untuk proses pertumbuhan, tetapi untuk pertahanan diri dan kompetisi dengan mikroba lain dalam mendapatkan nutrisi, habitat, oksigen, cahaya dan lain-lain (Muchlis, 2013).

iii. *Vibrio harveyi*

Hasil homologi sekuen 16S rRNA dari isolat TR 20 mempunyai kemiripan homologi dengan *Enterobacter cloacae* strain ATCC 13047 dengan tingkat homologi sebesar 99%. Ini berarti tingkat homologinya dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Berdasarkan pohon filogenetik yang mengikutsertakan beberapa data sekuen *GenBank*, pohon UPGMA berada pada satu cabang maupun node (genus) yang sama dengan bakteri *Vibrio harveyi*.

V. harveyi merupakan bakteri laut Gram negatif berbentuk batang dan bersifat motil yang dapat menjadi bakteri patogen bagi ikan dan invertebrata laut, salah satunya pada Udang Vannamei. *V. harveyi* tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup dengan oksigen atau tanpa adanya oksigen (Holt and Krieg dalam Yufinta *et al.*, 2018).

Vibrio harveyi termasuk bakteri patogen, namun spesies bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim amilase yang digunakan sebagai biodegradasi yaitu penguraian limbah-limbah amilum pada pabrik serta pengurai serasah mangrove yang telah mati. *Vibrio harveyi* memiliki metabolit sekunder yang tidak digunakan untuk proses pertumbuhan, tetapi untuk pertahanan diri dan kompetisi dengan mikroba lain.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian ini berhasil memperoleh 10 isolat bakteri (TR 2, TR 6, TR 7, TR 9, TR 11, TR 13, TR 15, TR 16, TR 18 dan TR 20). Didapat 3 isolat bakteri yaitu TR 6, TR 11 dan TR 20 mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*E.coli*, *P.aeruginosa* dan *V.alginolyticus*) dengan diameter zona hambat berturut yaitu TR 20 (*E. coli*) 4,65 mm dengan kategori lemah, TR 6 (*P.aeruginosa*) 5,22 mm dengan kategori sedang dan TR 11 (*V.alginolyticus*) 5,55 mm dengan kategori sedang. Hasil analisis DNA secara molekuler dengan 16S rRNA dan analisis BLAST menunjukkan hubungan

kekerabatan masing – masing, yaitu isolat TR 6 termasuk kelompok dari *Bacillus paramycoides* strain MCCC 1A04098, isolat TR 11 termasuk kelompok dari *Enterobacter cloacae* strain ATCC 13047 dan TR 20 termasuk kelompok *Vibrio harveyi* strain NBRC 15634.

Saran

Perlu dilakukan uji lanjut kemampuan memproduksi enzim amilolitik masing-masing isolat bakteri dengan kemampuan bakteri amilolitik dalam biodegradasi limbah-limbah yang mengandung amilum.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hansen, W.F.E., U.S, Hastuti., S.P, Makkadafi., P.M.A, Asna., dan F.S.A, Nugraheni. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Amilolitik dari Tanah yang Tercampur Limbah Kulit Ubi Kayu di Bondowoso, Jawa Timur. Universitas Muhammadiyah Malang, Kota Malang.
2. Hastuti, U.S., F.S.A, Nugraheni dan M.A, Putri. (2017). Isolasi dan Identifikasi Spesies Bakteri Amilolitik yang Berasal dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan, Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional*. Universitas Negeri Malang.
3. Irdawati., M, Fifendy dan N, Yenti. (2015). Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan.
4. Liu, Yang., J, Du., Q, Lai., R, Zeng., D, Ye., J, Xu and Z, Shao. (2017). Proposal of nine novel species of the *Bacillus cereus* group. *Internatoinal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
5. Lusiano. A. (2007). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbon klastik dengan Sekuens 16S rDNA dari Sedimen Perairan Dumai. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru
6. Muchlis, A. R. F. (2013). Skrining Bakteri Symbion Spons Asal Perairan Pulau Polewali dan Pulau Sarappolompo Sebagai Penghasil Antibakteri terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia dan Ikan. *Skripsi*. (p. 69). Universitas Hasanuddin. Makassar.
7. Noaman, N. H., A, Fattah., M, Khaleata., and S. H, Zaky. (2004). Factor Affecting Antimicrob Activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Journal Microbiol Res*.
8. Pramana. (2007). Phylogeny as a Central Principle in Taxonomy: Phylogenetic Definitions of Taxon Names, Volume 39, pages 307-322.
9. Sari, K. I. P., Periadnadi., dan N, Nasir. (2013). Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (Zingiberaceae) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, Pages 2303-2162.

10. Subagiyo., M.S.R., Djarod., dan W.A, Setyati. (2017). Potensi Ekosistem Mangrove Sebagai Sumber Bakteri untuk Produksi Protease, Amilase dan Selulase. Jurnal Kelautan, Volume 20(2), pages 106–111.
11. Sudiana, I.M ., A, Kanti., M, Rahmansyah., S, Widawati., Suliasih., R.W, Rahayu., dan H, Imanuddin. (2002). Populasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik yang Diisolasi Berbagai Ketinggian Lokasi di Taman Nasional Gunung Halimun.
12. 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
13. Streit, J.M., R.N, Jones., H.S, Sader., and T.R, Fritsche. (2004). Assessment of Pathogen Occurrences and Resistance Profiles Among Infected Patients in The Intensive Care Unit: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). *Int. J. Antimicrob. Agents*, Volume 24, Pages 111–118.
14. Wolf, C.E., and W.R, Gibbons., (1996). Improved Method for Qualification of Bacteriocins Nicin. *Appl Bacterio*, Volume l80, Pages 453.
15. Yahya., H, Nursyam., Y. Risjani., dan Soemarno. (2014). Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Jurnal Ilmu Kelautan*, Volume 19(1) pages 35-42.
16. Yufinta, C.P., G. S. J ,Pande., A. P, Made. (2018). Pengaruh Penambahan *Bacillus* sp. terhadap Kelulushidupan Pasca Larva Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang Terinfeksi Vibriosis. *Current Trends in Aquatic Science*, Volume 1 (1), pages 89-95.