

POTENSI BAKTERI LAUT SEBAGAI SUMBER ANTIBIOTIK BARU PENGHAMBAT *SACCHAROMYCES AUREUS*

Marine Bacteria Potential as New Antibiotic Inhibit Saccharomyces aureus

Nur Agustin Mardiana^{1*}, Tutik Murniasih², Widya Dwi Rukmi¹, dan Joni Kusnadi¹

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian –Universitas Brawijaya
Jl.Veteran – Malang 65145

²Lembaga Pusat Penelitian Oseanografi
Jl. Pasir putih No. 1 Ancol Timur - Jakarta 14430

*Penulis Korespondensi, email : nuragustin77@gmail.com

Disubmit: 1 September 2019 Direvisi: 27 Januari 2020 Diterima: 10 Februari 202

ABSTRAK

Penemuan akan antibiotik baru yang semakin menurun dan meningkatnya penyakit yang disebabkan oleh *Saccharomyces aureus* telah meningkatkan minat terhadap bakteri laut sebagai produsen senyawa antibiotik baru. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri dari lima isolat bakteri laut terhadap *Saccharomyces aureus* dan mengidentifikasi jenis bakteri laut yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan 16S rRNA. Hasil penelitian menunjukkan dari lima isolat bakteri laut, isolat M1.SP3121015.101.a menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dengan rerata daya hambat sebesar 10,20 mm. Karakterisasi M1.SP3.121015.101.a dilakukan dengan menggunakan 16S rRNA didapatkan cluster gen pada \pm 1500 bp. Berdasarkan sekuens isolat M1.SP3121015.101.a memiliki kemiripan dengan *Bacillus tequilensis* strain K2.4.2 dengan 100% kesamaan. Penelitian ini memberikan manfaat yaitu didapatkannya isolat bakteri laut yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan dapat digunakan pada penelitian selanjutnya seperti proses isolasi senyawa bioaktif maupun proses optimasi.

Kata Kunci: 16S rRNA; Aktivitas Antibakteri; Bakteri Laut; *Saccharomyces aureus*

ABSTRACT

A decreasing invention on new antibiotic and increasing disease caused by Saccharomyces aureus has raised increasing interest in marine bacteria as promising producers of new antibiotic agent. The aim of this study is to explore marine bacteria activity to inhibit Saccharomyces aureus . The result showed that among five isolates of marine bacteria, the M1.SP3121015.101.a strain showed the highest antibacterial activity with inhibition zone was 10,20 mm. The characterization of M1.SP3.121015.101.a was carried out using 16S rRNA, it showed that gene cluster at \pm 1500 bp. The sequences of M1.SP3121015.101.a have been closes to Bacillus tequilensis strain K 2.4.2 with 100% similarity. This study provides some information about the isolate of marine bacteria that has the highest antibacterial activity and it can be used in further research such as the process of isolation of bioactive compounds and the optimization process.

Keywords: 16S rRNA; Antibacterial Activity; Marine Bacteria; *Saccharomyces aureus*

PENDAHULUAN

Penemuan akan antibiotik baru mengalami penurunan. Pada tahun 1960 dan 1970an ditemukan 4 kelas antibiotik, di akhir tahun 1980-an terdapat 2 kelas antibiotik, dan semenjak itu, belum ada penemuan tentang antibiotik baru (Urahn *et al.*, 2016). Antibiotik yang ada saat ini, umumnya adalah turunan antibiotik yang ditemukan pada tahun 1960-1980 dan ditemukan kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik yang mencapai 28% di kawasan Asia (Chen dan Huang, 2014). Salah satu bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik adalah *Saccharomyces aureus*.

Saccharomyces aureus adalah bakteri patogen yang menyebabkan penyakit infeksi dan *food borne disease* (Lin *et al.*, 2016). Gejala yang timbul diakibatkan oleh bakteri *Saccharomyces aureus* yaitu abses, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan *toxic shock syndrome* (Schaumburg *et al.*, 2014). Setiap tahunnya terdapat 80.461 kasus di Amerika Serikat akibat resistensi *Saccharomyces aureus* (CDC, 2013). Untuk mengatasi resistensi *Saccharomyces aureus*, dibutuhkan sumber antibiotik baru. Salah satu sumber antibiotik berasal dari lautan.

Lautan memiliki banyak potensi karena menutupi 71% permukaan bumi dan 80% kehidupan di planet ini ditemukan di bawah permukaan laut (Kasanah dan Hamann, 2004). Lingkungan laut juga menyediakan keanekaragaman hayati bakteri yang luar biasa. Diperkirakan sekitar 10^8 taksa bakteri berasal dari laut (Pedrós-Alió, 2006). Di lingkungan laut, bakteri berperan sebagai sumber makanan, sumber enzim, dan penghasil metabolit sekunder (Das *et al.*, 2006).

Bakteri laut dapat menjadi sumber antibiotik baru yang menjanjikan karena menghasilkan senyawa unik daripada bakteri terestrial (Rey *et al.*, 2004). Senyawa unik tersebut dihasilkan sebagai bentuk pertahanan diri dari kondisi ekstrem di lautan seperti tekanan tinggi, cahaya dan oksigen yang terbatas (Debbab *et al.*, 2012). Bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri laut seperti *Halobacillin*, *Moja vensis A.*, dan *Bogorol A* (Mondol *et al.*, 2013). Senyawa bioaktif tersebut memiliki aktivitas biologis seperti sebagai antibakteri, antitumor, antiviral, dan antifungi (Andryukov *et al.*, 2019; Schinke *et al.*, 2017).

Potensi yang dimiliki oleh bakteri laut cukup besar terutama di bidang bioteknologi

dan farmasi. Beberapa studi tentang eksplorasi potensi bakteri laut sebagai antibakteri sudah pernah dilakukan oleh Judianti *et al.*, (2014); Kasitowati *et al.*, (2019); dan Tapilatu, (2016) di beberapa wilayah Indonesia. Namun, belum adanya studi tentang potensi bakteri laut yang diisolasi dari spons Lithistida di perairan Untung Jawa dan bakteri Laut Dalam Samudra Pasifik. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini untuk mengeksplorasi potensi bakteri laut tersebut sebagai antibakteri dan mengidentifikasi jenis bakteri laut yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dengan menggunakan 16S-rRNA. Penelitian ini memberikan manfaat yaitu didapatkannya isolat bakteri laut yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan dapat digunakan pada penelitian selanjutnya seperti proses isolasi senyawa bioaktif maupun proses optimasi.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat M1.Sp3121015.101.a diisolasi dari spons Lithistida di Pulau Untung Jawa, Kepulauan Seribu, Jakarta. Isolat STA 45/18.11.16/1000 m/10-1.4, STA 50/24.11.16/25 m/10-1, STA 45/18.11.16/100 m/10-4. 2, dan STA 47/19.11.16/5 m/10-4. (1.1) diisolasi dari laut dalam di Samudera Pasifik dan isolat *Saccharomyces aureus* diperoleh dari LIPI Oseanografi. Bahan lainnya yaitu media NA (Himedia), Muller Hinton Agar (Himedia), media M1 yang tersusun dari air laut, 0,4% yeast ekstrak (Himedia), 0,2% pepton (Himedia), dan 1% amilum (merck), media M2 yang tersusun dari air laut dan 0,375% marine broth (Carl roth), NaCl 0,9% (Merck), standar 0,5 Mc Farland (Himedia), alkohol 96% teknis, etil asetat teknis, akuades, tripton(himedia), protease (himedia), Quick-DNATM Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research, D6005), MyTaq Red Mix (Bioline), Zymoclean Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research), akuabides, DNA template, primer 27F μ l sekuens AGAGTTTGATCMTGGCTCAG, dan primer 1492R μ l dengan sekuen TACGGYTA CCTTGTTACGACTT,

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Laminar air flow (Mascotte), inkubator (Binder), kompor listrik (Maspion), gelas ukur 100 ml (Iwaki Pyrex), cawan petri plastik, timbangan digital (Scout Pro), kaca arloji,

mikropipet (Thermo scientific), autoklaf (Tomy 8000), tip, bunsen, ose, bola hisap (D&D), kuvet, tabung reaksi (Pyrex), corong (Herma), magnetic stirer (wisestir), sentrifuge (centri-fuge 5810 R), inkubator shaker (IKA KS 4000), dan labu ukur (Pyrex)

Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua kali ulangan untuk mengetahui kemampuan bakteri laut dalam menghambat *Saccharomyces aureus*. Setelah didapatkan isolat bakteri laut dengan kemampuan terbesar, maka akan dilakukan tahap identifikasi isolat tersebut dengan 16S rRNA.

Fermentasi

Masing-masing isolat bakteri laut diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam 30 ml dan diinkubasi selama 72 jam suhu 30°C pada 150 rpm.

Ekstraksi

Isolat yang sudah difermentasi selama setelah 72 jam akan dilakukan ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan etil asetat teknis (1: 1). Ekstrak digunakan untuk uji antibakteri terhadap *Saccharomyces aureus*.

Uji antibakteri

Uji antibakteri diukur dengan cakram difusi agar metode Kirby Bauer. Secara singkat, 1 ose *Saccharomyces aureus* dimasukkan ke dalam 0,9% NaCl. Kepadatannya dibandingkan dengan 0,5 Mc Farland (1×10^8 cFu/ml). 100 μ l *Saccharomyces aureus* disebarkan pada MHA dan kertas disk ditempatkan pada MHA agar. 100 μ g ekstrak bakteri laut dilarutkan ke dalam 20 μ l metanol. Dikering-anginkan selama satu jam. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk menentukan zona bening. Zona bening menunjukkan penghambatan ekstrak terhadap *Saccharomyces aureus*.

Identifikasi Bakteri Laut

Identifikasi bakteri laut menggunakan 16S rRNA. Proses identifikasi bakteri laut dimulai dari tahapan isolasi DNA bakteri. Untuk mengekstraksi DNA bakteri, 1,5 ml sampel dimurnikan dengan Luria Bertani. Proses ekstraksi menggunakan ZR Fungal/Bacterial DNA Kit.

Tahap selanjutnya yaitu amplifikasi. Proses amplifikasi PCR menggunakan MyTaq Red Mix. Proses PCR dilakukan dengan menggunakan volume 25 μ l, ke dalam mikrotube 0,2 ml bahan-bahan dimasukkan sebagai berikut: aquabides 9,5 μ l, primer 27F 1 μ l, primer 1492R 1 μ l, DNA template 1 μ l dan master mix 12,5 μ l sehingga total volume adalah 25 μ l. Kemudian, mesin Thermal cycler dijalankan dengan pengaturan suhu sebagai berikut: denaturasi awal pada 95 °C selama 1 menit, denaturasi pada 95 °C selama 15 detik, penempelan pada 52 °C selama 15 detik, ekstensi pada 68 °C selama 45 detik. Proses PCR dilakukan dalam 35 siklus.

Proses pemurnian hasil PCR menggunakan Zymoclean Gel DNA Recovery Kit. DNA yang dimurnikan dirun dengan elektroforesis pada gel agarosa 1,2%. Ditambahkan 100 ml Tris asetat EDTA (TAE) ke dalam elektroforesis sampai gel agarosa terendam. Kemudian disiapkan DNA marker dan dimasukkan ke dalam sumur dengan menggunakan mikropipet. Elektroforesis dijalankan dengan tegangan 70 V selama 25 menit. Selanjutnya, gel agarosa direndam dalam larutan etidium bromida (EtBr) selama 5 menit dan dibaca dengan transiluminator UV untuk mengamati pita yang terbentuk.

Analisa Statistik

Pengujian aktivitas antibakteri diuji dengan one way ANOVA dan uji lanjut dengan Tukey dengan selang kepercayaan sebesar 5% di minitab 17. Proses alignment sequens menggunakan CLUSTAL W dengan bantuan aplikasi MEGA X untuk pembuatan pohon filogeni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dari isolat bakteri laut menggunakan difusi cakram. Metode difusi agar dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*). Adanya diameter zona bening menunjukkan respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri. Syarat jumlah bakteri patogen untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Her-mawan *et al.*, 2007). Pada penelitian ini, menggunakan standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan 1×10^8 CFU/ml (Reverdy *et al.*, 2001).

Tabel 1. Aktivitas antibakteri ekstrak beberapa isolat bakteri laut

Ekstrak Etil Asetat Isolat Bakteri Laut	Rerata Diameter Daya Hambat (mm)
M1.SP3.121015.101.a	10,20 ± 0,07 a
STA45/18.11.16/1000 m/ 10 ⁻¹ . 4	9,76 ± 0,12 a
STA50 /24. 11.16/25 m/10 ⁻¹ . 4	7,72 ± 0,25 bc
STA45/ 18.11.16/100 m/ 10 ⁻⁴ . 2	8,18 ± 0,19 b
STA47/19.11.16/ 5 m/ 10 ⁻⁴ .(1.1)	7,19 ± 0,09 c

Keterangan: angka yang didampingi huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p < 0,05$)

Hasil analisa ragam dengan menggunakan one-way ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata aktivitas antibakteri ekstrak beberapa isolat bakteri laut, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat M1.SP3.121015.101.a mempunyai aktivitas antibakteri terbesar daripada isolat lainnya. Isolat M1.SP3.121015.101.a adalah bakteri yang diisolasi dari sponge *Listhiatida* sedangkan keempat isolat lainnya diisolasi dari sedimen dengan kedalaman laut yang berbeda. Kemampuan dari isolat M1.SP3.121015.101.a yang diisolasi dari sponge untuk menghambat *Saccharomyces aureus* didukung oleh penelitian Santos *et al.* Penelitian Santos *et al.* (2010), menunjukkan kemampuan hambat bakteri yang berasosiasi dengan sponge terhadap *Saccharomyces aureus*, *Saccharomyces epidermis*, *Enterococcus faecium*, dan *Clostridium fimi*.

Berdasarkan zona hambat, Prijatmoko *et al.*, (2018) menggolongkan kemampuan aktivitas antibakteri menjadi 4 yaitu lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Aktivitas antibakteri dikatakan lemah jika diameter zona hambat sebesar < 8 mm, sedang yaitu 8-14 mm, kuat sebesar 15-19 mm, dan sangat kuat sebesar >20 mm. Aktivitas antibakteri dari isolat STA50/24.11.16/25m/10⁻¹.4 dan STA47/19.11.16/5m/10⁻⁴.(1.1) tergolong ke dalam lemah. Aktivitas antibakteri STA45/18.11.16/100 m/10⁻⁴.2, STA45/18.11.16/1000 m/10⁻¹.4, dan M1.SP3.121015.101.a termasuk ke dalam sedang.

Biasanya bakteri yang bersimbiosis dengan makhluk hidup laut seperti sponge, menghasilkan metabolit sekunder 5-10 kali lebih banyak daripada bakteri yang hidup bebas (Long dan Azam, 2001). Bakteri yang bersimbiosis dengan sponge umumnya menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, alkaloid, peptida, dan poliketida (Taylor *et al.*, 2007) Metabolit sekunder bia-

sanya disekresikan oleh bakteri sebagai perlindungan diri melawan bakteri lainnya (Tyc *et al.*, 2017). Selain itu, bakteri yang bersimbiosis dengan sponge biasanya menghasilkan enzim hidrolisis ekstraseluler yang digunakan untuk memetabolisme senyawa organik kompleks. Hal ini yang kemungkinan menyebabkan aktivitas penghambatan isolat M1.SP3121015.101.a lebih besar daripada isolat STA yang diisolasi dari sedimen laut.

Identifikasi Bakteri Laut

Identifikasi dengan 16S rRNA dilakukan terhadap bakteri laut yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Saccharomyces aureus*. Di penelitian ini, isolat M1.SP3.121015.101.a akan diidentifikasi jenisnya. Proses identifikasi dimulai dengan tahapan isolasi DNA, amplifikasi ampikon gen 16S rRNA dengan PCR, sekuensing, dan pembuatan pohon filogeni.

Isolasi DNA

Isolasi DNA menggunakan ZR fungal/Bacterial DNA Kit. Hasil isolasi DNA dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kuantifikasi DNA

Isolat	Konsentrasi (ng/µl)	A (260/280)	A (260/230)
M1.SP3.121015.101.a	557,5	2,01	2,02

Keterangan: A = Absorbansi

Berdasarkan Tabel 2, isolat M1.SP3.121015.101.a mempunyai konsentrasi sebesar 557,5ng/µl dengan nilai absorbansi rasio 260/280 sebesar 2,01. Absorbansi 260 nm digunakan untuk mengukur asam nukleat sedangkan absorbansi pada 280 nm digunakan untuk mengukur gugus fenol dan rantai asam aromatik seperti triptofan, fenilalanin, tirosin, dan histidin.

Rasio absorbansi pada 260 dan 280 nm digunakan untuk menguji kemurniaan DNA. Rasio 260/280 dianggap murni jika nilai absorbansi diantara 1,8-2,00 (Usman *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil pengukuran, nilai kemurniaan >2 menunjukkan adanya kontaminasi RNA.

Nilai absorbansi rasio 260/230 yang didapat adalah 2,02. Rasio 260/230 digunakan sebagai indikator adanya kontaminan organik seperti fenol, trizol, garam buffer, ataupun senyawa organik lainnya. Jika nilai rasio 260/230 diantara rentang 2,0 dan 2,2, maka dianggap bebas dari kontaminan (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016).

Amplifikasi

Amplifikasi menggunakan PCR bertujuan untuk memperbanyak fragmen DNA yang sudah diisolasi. Hasil amplifikasi dapat dideteksi dengan elektroforesis. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat amplikon yang diampifikasi menggunakan primer 27F dan 1492R merupakan gen 16 S-rDNA yang memiliki ukuran sekitar ± 1500 bp. Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Akhmaloka dkk, (2006) dan Awad *et al.*, (2015) penggunaan primer 27F dan 1492 R akan menghasilkan 1500 bp. Pita amplikon yang dihasilkan pada PCR terlihat tebal dan tidak *smearing*. Proses amplifikasi PCR yang dilakukan dianggap berjalan dengan baik. Irmawati (2013) menyatakan bahwa pita DNA yang tebal menunjukkan

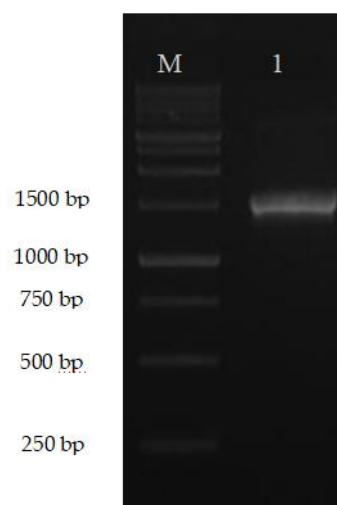
konsentrasi DNA yang tinggi sedangkan pita yang mengumpul (tidak ter-sebar) menunjukkan DNA total yang dieks-trak utuh.

Sekuensing

Sekuen gen penyandi 16S rRNA isolat M1.SP3.121015.101.a yang didapat akan digunakan untuk mendesain pohon filogeni. Sekuen gen penyandi 16S rRNA merupakan molekul yang sempurna karena memiliki daerah *conserved* (dipertahankan) dan fungsi yang konstan pada tiap organisme, tersebar secara universal, dan mempunyai urutan sekuen yang terkonservasi dengan baik diantara anggota filogenetik yang luas (Madigan *et al.*, 2015).

Primer 27F dan 1492R digunakan untuk proses sekuensing basa nukleotida. Proses sekuensing dengan kedua primer akan menghasilkan urutan basa nukleotida secara menyeluruh. Sekuens dari isolat M1.SP3.121015.101.a dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil sekuen gen penyandi 16S rRNA dari isolat M1.SP3.121015.101.a dilacak homologinya terhadap sekuen 16S rRNA milik bakteri lainnya yang ada di dalam GenBank melalui program BLAST di NCBI. Dari BLAST di NCBI, didapatkan beberapa isolat bakteri yang memiliki kemiripan sekuen dengan isolat M1.SP3.121015.101.a. Isolat tersebut akan dibuat pohon filogeni untuk mengetahui hubungan kekerabatannya. Pohon filogeni dapat dilihat pada Gambar 3.

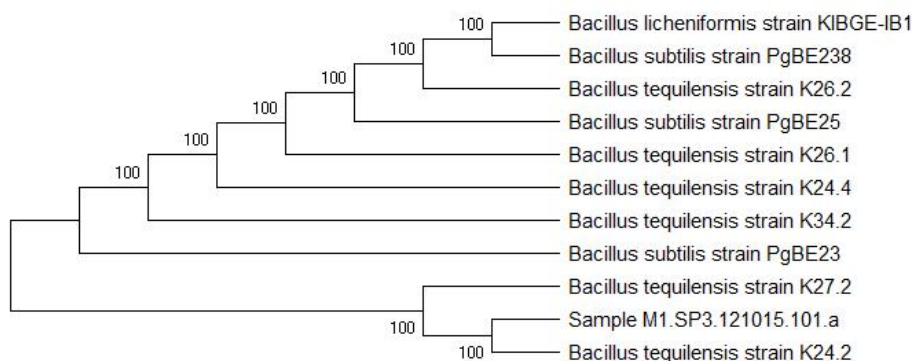


Gambar 1. Elektroforesis hasil amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan PCR. Lajur M merupakan pita DNA ladder dan Lajur 1 merupakan pita amplikon 16S rRNA isolat M1.SP3.121015.101.a.

```

1   CGAGCGGACA GATGGGAGCT TGCTCOCTGA TGTTAGCGGC GGACGGGTGA GTAACACGTG
61  GGTAACTGCG CTGTAAGACT GGGATAACTC CGGGAAACCG GGGCTAATAC CGGATGGTIG
121 TTTGAACCCG ATGGTTCAAA CATAAAAGGT GGCTTCGGCT ACCACTTACA GATGGACCCG
181 CGGCGCATTG GCTAGTITGGT GAGGTAACGG CTCACCAAGG CAACGATGCG TAGCCGACCT
241 GAGAGGGTGA TCGGCCACAC TGGGACTIGAG ACACGGGCCA GACTCCTAAG GGAGGCAGCA
301 GTAGGGAAATC TTCGCAATG GACGAAAGTC TGACGGAGCA ACGCCGCGTG AGTGATGAAG
361 GTTTTCGGAT CGTAAAGCTC TGTTGTTAGG GAAGAACAAG TACCGTTCGA ATAGGGCGGT
421 ACCTTGACGG TACCTAACCA GAAAGCCACG GCTAACTAAG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA
481 CGTAGGTGGC AAGCGTGTGC CGGAATTATG GGGCGTAAAG GGCTCGCAGG CGGTTTCTTA
541 AGTCTGATGT GAAAGCCCCC GGCTCAACCG GGGAGGGTCA TTGGAAACTG GGGAACTTGA
601 GTGCAGAAAG GAGAGGTGGA ATTCCACGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG ATGTGGAGGA
661 ACACCAAGTGG CBRAGGCGAC TCTCTGGTCT GTAACCTGAG CTGAGGAGCG AAGCGTGGG
721 GAGCGAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC CACGCCGTAA ACGATGAGTG CTRAGTGTTA
781 GGGGGTTTCC GCCCCTTAGT GCTGCAGCTA ACGCATTAAG CACTCCGCGT GGGGAGTACG
841 GTCGCAAGAC TGAAACTCAA AGGAATTGAC GGGGGCCCGC ACAAGCGGTG GAGCATGTGG
901 TTTAATTGCA AGCAACGCGA AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCCTCTGA CAATCCATGA
961 GATAGGACGT CCCCTTCGGG GGCAGAGTGA CAGGTGGTGC ATGGTTGTGC TCAGCTCGTG
1021 TCGTGAGATG TTGGGTTAAG TCCCGCAACG AGCGCAACCC TTGATCTTAG TTGCGACGAT
1081 TCAGTTGGGC ACTCTAAGGT GACTGCCCGT GACAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC
1141 AAATCATCAT GCCCCTTATG ACCTGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGACA GAACAAAGGG
1201 CAGCGAAACC GCGAGGTTAA GCCAATCCCA CAAATCTGTT CTCAGTTCGG ATCCGACTCT
1261 GCAACTCGAC TGCGTGAAGC TGGAAATGCT AGTAATCGGG GATCAGCATG CCGCGGTGAA
1321 TAGTTCCCGG GGCCTTGTAC ACACCGCCCG TCACACCAAG AGAGTTTGTG ACACCCGAAG
1381 TCGGTGAGGT AACCTTTTAG GAGCCAGCCG CCGAAGG
    
```

Gambar 2. Sekuens Gen Penyandi 16S rRNA isolat M1.SP3.121015.101.a



Gambar 3 Pohon Filogeni yang menunjukkan kekerabatan isolat M1.SP3.121015.101.a dengan beberapa spesies bakteri lainnya

Dari pohon filogeni yang terbentuk, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus tequilensis* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Penelitian yang dilakukan Gatson *et al.*, (2006), mengidentifikasi *Bacillus tequilensis* sebagai *B. subtilis* dengan menggunakan metode biokimia dan analisis sekuensing dengan menggunakan 16S rRNA *Bacillus subtilis* menunjukkan 99% kesamaan dengan *Bacillus tequilensis*. Pohon filogeni juga menunjukkan hubungan antara *Bacillus subtilis* dengan *Bacillus licheniformis*. *Bacillus licheniformis* memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan *Bacillus subtilis* berdasarkan analisa sekuensing 16S rRNA dan 16S-23S *internal transcribed spacer* (Xu dan Côté, 2003). Diperkirakan 80% sekuens genome *B. licheniformis* mengandung gen ortolog dari *B. subtilis* (Rey *et al.*, 2004).

Berdasarkan pohon filogeni, sampel M1.SP3.121015.101.a memiliki kekerabatan dekat dengan *Bacillus tequilensis* strain K24.2

yang ditunjukkan dengan cabang yang sama. Keberadaan dua isolat pada cabang yang sama menunjukkan kesamaan spesies (Ludwig dan Klenk, 2012). Isolat M1.SP3.121015.101.a memiliki persentase homologi sekuens 16S rRNA mencapai 100%. Oleh karena itu, isolat M1.SP3.121015.101.a dianggap mempunyai kesamaan spesies dengan *Bacillus tequilensis* strain K 24.2.

SIMPULAN

Isolat M1.SP3.121015.101.a memiliki potensi yang cukup besar untuk digunakan sebagai sumber antibiotik baru. Hal ini dikarenakan isolat M1.SP3.121015.101.a memiliki kemampuan penghambatan terbesar terhadap *Saccharomyces aureus* dengan diameter daya hambat sebesar 10,20 mm. Isolat M1.SP3.121015.101.a memiliki kekerabatan dekat dengan strain *Bacillus tequilensis* K.24.2 dengan

persentase kesamaannya yaitu 100%. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam bidang bioteknologi dan farmasi dari adanya informasi aktivitas antibakteri isolat bakteri laut dan dapat digunakan pada penelitian selanjutnya seperti proses isolasi senyawa bioaktif maupun proses optimasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LIPI Oseanografi yang telah mendukung dan mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhmaloka, -A. Suharto, -S. Nurbaiti, -I.N. Tika, -F.M. Warganegara. 2006. Ribotyping identification of thermophilic bacterium from papandayan crater. *ITB Journal of Engineering Science*. 38(1), 1-10. <https://doi.org/10.5614/itbj.eng.sci.2006.38.1.1>.
- Andryukov, -B., Mikhailov, -V., Besednova, -N. .2019. The biotechnological potential of secondary metabolites from marine bacteria. *Journal of Marine Science and Engineering*. 7(6), 1-16. <https://doi.org/10.3390/jmse7060176>.
- Awad, G. E. A. Mustofa -H., Danial E., Abdelwahed, -N.A.M, Awad H. (2015) 'Enhanced production of thermostable lipase from *Bacillus cereus* ASSCRC-P1 in waste frying oil based medium using statistical experimental design', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(9), pp. 007-015. doi: 10.7324/JAPS.2015.50902.
- Chen, -C.J., Huang, Y.C. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. (Themed Section: New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections.). *Clinical Microbiology and Infection*. 20(7), 605-623. <https://doi.org/10.1111/1469-691.12705>
- Das, -S., Lyla, -P.S. Khan, -S.A. 2006. Marine microbial diversity and ecology: Importance and future perspectives. *Current Science*. 90(10), 1325-1335. <https://pdfs.semanticscholar.org/074a/cc7188e761359d05c98855cb1453f84c55fb.pdf>
- Debbab, -A., Aly -A.H, Ruangelie -E.E, Victor -W. 2012. New anthracene derivatives - Structure elucidation and antimicrobial activity. *European Journal of Organic Chemistry*. 7, 1351-1359. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201101442>.
- Gatson -JW., Benz -B.F., Chandrasekaran -C., Satomi -M., Venkateswaran -K., Hart -ME. 2006. *Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000-year-old Mexican shaft-tomb, is closely related to *Bacillus subtilis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56(7), 1475-1484. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63946-0>.
- Irmawati.. 2013. Perubahan keragaman genetik ikan kerapu tikus (*cromileptes altivelis*) generasi pertama pada stok hatchery. IPB. Bogor. <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/6996>.
- Judianti, -O.W.D. -M.M Fiqri, -M.K. Ansyori, -G. Trimulyono. 2014. Aktivitas antibakteri isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains & Matematika*. 2(2), 49-53. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/sainsmatematika/article/view/44>
- Kasanah, -N. Hamann, -M.T. 2004. Development of antibiotics and the future of marine microorganisms to stem the tide of antibiotic resistance.', *Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)*. 5(8), 827-37. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15600239> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PM4969015>.
- Kasitowati, -R.D. -K Witriansyah, A Trianto4, -D.C., Pratiwi, -M.AP Panjaitan. 2019. Antifungal activity of marine sponges (Class Demospongiae) collected from Biak, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236(1), 0-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012102>.
- Lin, -J., Lin -D., Xu -P., Zhang -T., Ou -Q., Bai -C., Yao -Z. 2016. Non-hospital environment contamination with *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: proportion meta-analysis and features of antibiotic resistance and molecular genetics, *Environmental Research*, 150, pp. 528-540. doi: 10.1016/j.envres.2016.06.040.
- Long, -R., Azam, -F. 2001. Antagonistic

- interactions among marine planktonic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(11), 4975–4983. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.4975>.
- Lucena-Aguilar -G., Sánchez-López -AM., Barberán-Aceituno -C., Carrillo-Ávila JA., López-Guerrero -JA., Aguilar-Quesada -R. 2016. DNA source selection for downstream applications based on dna quality indicators analysis. *Biopreservation and Biobanking*. 14(4), 264–270. <https://doi.org/10.1089/bio.2015.0064>.
- Ludwig, -W., Klenk, -H.P. 2012. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. 49–65. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_8.
- Madigan, -M.T., Martinko, -J.M., Parker, -J. 2015. Brock biology of micro-organisms. Pearson
- Mondol, -M.A.M., Shin, -H.J. Islam, -M. T. 2013. Diversity of secondary metabolites from marine bacillus species: chemistry and biological activity', *Marine Drugs*, 11(8), 2846–2872. <https://doi.org/10.3390/md11082846>.
- Pedrós-Alió, C. (2006) 'Marine microbial diversity: can it be determined?', *Trends in Microbiology*, 14(6), pp. 257–263. doi: 10.1016/j.tim.2006.04.007.
- Prijatmoko, D., Syafira, N. L. and Lestari, P. E. (2018) 'Antibacterial activity of essential oil extracts from *Curcuma xanthorrhiza* roxb. rhizomes against bacteria causing pulp necrosis. *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 3(3), 144. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v3i3.763>.
- Rey, -M. W. *et al.* (2004) 'Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species.', *Genome biology*, 5(10). doi: 10.1186/gb-2004-5-10-r77.
- Santos -OC., Pontes -PV., Santos -J.F., Muricy -G., Giambiagi-Demarval -M., Laport -MS. 2010. Isolation, characterization and phylogeny of sponge-associated bacteria with antimicrobial activities from Brazil', *Research in Microbiology*. Elsevier Masson SAS. 161(7), 604–612. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.05.013>.
- Schaumburg -F., Alabi -A.S., Peters -G., Becker -K. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Africa. *Clinical Microbiology and Infection*. European Society of Clinical Infectious Diseases. 20(7), 589–596. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12690>.
- Schinke, -C., Thamires -M., Sonia -C.N., Itamar -S.M., Felix -G.R. 2017. Antibacterial compounds from marine bacteria, 2010-2015. *Journal of Natural Products*. 80(4), 1215–1228. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00235>
- Tapilatu, -Y.H. 2016. Marine Bacteria from eastern indonesia waters and their potential use in biotechnology. *Omni-Akuatika*. 12(1). <https://doi.org/10.20884/1.oa.2016.12.1.32>.
- Taylor, -M.W. Radax -R, Steger -D, Wagner -M. 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71(2), 295–347. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00040-06>
- Tyc, -O., Song -C., Dickschat -J.S., Vos -M, Garbeva -P. 2017. The ecological role of volatile and soluble secondary metabolites produced by soil bacteria. *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd. 25(4), 280–292. doi: 10.1016/j.tim.2016.12.002
- Urahn, -S.K., Allan -C., Ellizabeth -J. 2016. A Scientific Roadmap for Antibiotic Discovery. *The Pew Charitable Trusts*, (May), 1–42. <http://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/reports/2016/05/a-scientific-roadmap-for-antibiotic-discovery>
- Usman, -T., Yu -Y., Liu -C., Fan -Z., Wang -Y. 2014. Comparison of methods for high quantity and quality genomic DNA extraction from raw cow milk. *Genetics and Molecular Research*. 13(2), 3319–3328. <https://doi.org/10.4238/2014.April.29.10>
- Xu, -D., Côté, -J.C. 2003. Phylogenetic relationships between *Bacillus* species and related genera inferred from comparison of 3' end 16S rDNA and 5' end 16S-23S ITS nucleotide sequences', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 53(3), 695–704. doi: 10.1099/ijs.0.02346-0.