

Co-Culture Anoxygenic Photosynthetic Bacteria With *Bacillus* sp. Isolated From Hanura Beach Against *Vibrio* sp.

Sumardi*, Salman Farisi, Christina Nugroho Ekowati, Sundari Ayu Oktalia

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung,
Jl. Soemantri Brojonegoro, Gedung Meneng, Bandar Lampung, 35145, Lampung, Indonesia

*Email sumardi_bio@yahoo.co.id

ABSTRACT

A mangrove forest ecosystem is a place where many special *Bacillus* sp. found. This study aims to obtain *Bacillus* sp. isolates that can inhibit the growth of *Vibrio* sp. This study was conducted by selecting 77 *Bacillus* sp. isolates from the Hanura mangrove forest area. In addition, selected bacteria were tested for salt stress, pH stress, pathogenicity test, and antibiotic susceptibility test. Selected isolates were cultivated together with *Vibrio* sp. for 7 days. *Bacillus* sp. and *Vibrio* sp. cultured again with the addition of anoxygenic photosynthetic bacteria for 4 days. From the results of the initial selection, 4 isolates could inhibit the growth of *Vibrio* sp. The final results showed that *Bacillus* IL2K8 isolates were known to inhibit the growth of *Vibrio* sp., can grow at salinity 0%, 3%, 6% and pH 7 and pH 10. IL2K8 isolates are not pathogenic, resistant to ampicillin antibiotics, streptomycin, nalidixic acid, and chloramphenicol but sensitive to trimethoprim antibiotics. In the joint culture of liquid media IL2K8 together with Anoxygenic Photosynthetic Bacteria (APB) isolates IL2K8 can inhibit the growth of *Vibrio* sp.

Keywords: antibacterial, *Bacillus* sp., BFA, mangrove, *Vibrio* sp.

PENDAHULUAN

Kendala yang sering terjadi dalam budidaya ikan dan udang adalah munculnya serangan penyakit yang disebabkan oleh organisme patogen seperti bakteri. Penggunaan antibiotik sering digunakan sebagai solusi menanggulangi masalah ini. Namun pemberian antibiotik ternyata memunculkan masalah baru yaitu terjadinya resistensi antibiotik. Bakteri probiotik yang dapat menghasilkan antibiotik alami dapat menjadi solusi yang lebih baik.

Penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol dapat menjadi solusi dari permasalahan penyakit terhadap budidaya laut (Samosir *et. al*, 2017). Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dalam jumlah yang cukup memberikan manfaat bagi kesehatan tubuh dan memiliki pengaruh menguntungkan karena asosiasinya dengan inang (Wardika *et. al*, 2014 dan Anurogo, 2014). Bakteri probiotik mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang dapat berfungsi sebagai antimikroba dan antibiotik yang mampu menekan

pertumbuhan bakteri patogen (Samosir *et. al*, 2017). Bakteri *Bacillus* dapat dijadikan kandidat probiotik karena dapat hidup pada berbagai kondisi, salah satunya dapat hidup pada ekosistem mangrove. Bakteri dari genus *Bacillus*, *Bifidobacteri*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Afifella* dan *Rhodobacter* dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik dalam saluran pencernaan hewan terutama hewan akuatik (Feliatra dan Suryadi, 2004; Chumpol *et. al*, 2017).

Bacillus sp. diketahui memiliki kemampuan menghasilkan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Sumardi *et. al*, 2012), karena kemampuannya dalam menghasikan antibiotik tersebut bakteri *Bacillus* dapat dimanfaatkan sebagai kandidat probiotik penghasil antibakteri alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. dan dapat menjadi salah satu solusi bagi permasalahan dalam usaha budidaya perairan. Bakteri *Vibrio spp.* merupakan salah satu bakteri yang sering menimbulkan masalah dalam budidaya perairan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri *Bacillus* sp. dari kawasan hutan mangrove

yang mampu menghasilkan antibakteri penghambat *Vibrio* sp.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pepton, ekstrak khamir, gliserol, agar, air laut, garam fisiologis 0,98%, garam dapur, NaOH 1 M, HCl 1 M, kristal violet, akuades, disk antibiotik trimetoprim, disk antibiotik streptomisin, disk antibiotik kloramfenikol 30 µg, ampicilin 10 µg, streptomisin 10 µg, trimetoprim 5 µg, dan asam nalidiksik 30 µg, media Agar Darah, Sea Water Complete dan Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose. Isolat yang digunakan yaitu 77 isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari lumpur, daun, dan perakaran mangrove Hanura, bakteri *Vibrio* sp. dan isolat Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Seleksi Isolat *Bacillus* sp. Penghasil Antibakteri Penghambat *Vibrio* sp.

Setiap isolat dan bakteri uji *Vibrio* sp. dibuat menjadi suspensi cair sebanyak 10 ml di dalam tabung reaksi, untuk selanjutnya diuji dengan menggunakan metode Kirby Bauer. Suspensi *Vibrio* sp. dimasukkan ke dalam cawan petri dengan metode *pour plate*. Kemudian di atas medium yang berisi bakteri *Vibrio* sp. dimasukkan kertas cakram yang telah dicelupkan ke dalam isolat bakteri *Bacillus* sp. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari. Daerah terang atau zona jernih yang terbentuk menandakan bahwa isolat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Zona jernih diukur menggunakan jangka sorong dan selanjutnya isolat yang menunjukkan daerah terang atau jernih dipilih untuk dilakukan karakterisasi (Sari *et. al*, 2015).

Karakterisasi Isolat *Bacillus* sp.

Karakterisasi isolat *Bacillus* sp. meliputi: uji cekaman terhadap kadar garam; uji cekaman terhadap pH; uji patogenisitas; dan uji kepekaan antibiotik.

Uji cekaman terhadap kadar garam

Isolat *Bacillus* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan garam konsentrasi 0%; 3%; dan 6%. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter koloni yang tumbuh (Triyanto *et. al*, 2009).

Uji cekaman terhadap pH

Isolat *Bacillus* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan pH 4, pH 7, dan pH 10. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter koloni yang tumbuh (Triyanto, *et. al*, 2009). Isolat yang menunjukkan pertumbuhan yang baik selanjutnya dipilih untuk dilakukan uji selanjutnya.

Uji patogenisitas

Patogenisitas ditentukan melalui uji hemolitik pada medium agar darah. Isolat *Bacillus* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar Darah. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona yang terbentuk disekitar koloni atau perubahan warna media (Hamtini, 2014). Uji hemolitik positif menunjukkan karakter patogen pada isolat. Isolat yang tidak menunjukkan sifat patogen dipilih untuk dilakukan uji selanjutnya.

Uji kepekaan antibiotik

Isolat diuji kepekaannya terhadap 5 jenis antibiotik antara lain kloramfenikol 30 µg, ampicilin 10 µg, streptomisin 10 µg, trimetoprim 5 µg, dan asam nalidiksik 30 µg dengan menggunakan metode Kirby-Bauer. Bakteri uji diinokulasi secara swab pada media SWC Agar cawan petri. Kemudian disk dari 5 jenis antibiotik diletakkan pada cawan kultur menggunakan pinset steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Pengamatan dengan melihat zona jernih yang terbentuk disekitar disk antibiotik (Hamtini, 2014 dan Puspitasari *et. al*, 2017).

Uji Kompatibel Isolat *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp dalam Media SWC Cair

Uji kompatibel yang dilakukan merupakan metode kultur bersama modifikasi dari metode Vaseeharan dan Ramasamy (2003). Suspensi cair Isolat *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp. dengan kepadatan 10^3 sel/ml dimasukkan ke dalam 50 ml media SWC cair. Sebagai kontrol isolat *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp. ditumbuhkan masing-masing pada media SWC cair. Selanjutnya diinkubasi pada orbital shaker dengan kecepatan 100 RPM pada suhu ruang selama 7 hari. Setiap hari kultur diambil untuk dihitung kepadatan jumlah *Vibrio* kontrol dan perlakuan yang tumbuh. Kultur dibuat pengenceran hingga seri 10^{-3} kemudian 1 ml dari setiap seri pengenceran diinokulasikan secara *pour plate* ke dalam media TCBS. Setelah inkubasi selama 24 jam kepadatan *Vibrio* sp. dihitung secara langsung. Kontrol *Bacillus* dihitung dengan membuat seri pengenceran sampai dengan 10^{-6} , lalu diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} lalu diinokulasikan secara *pour plate* ke dalam media SWC agar dan diinkubasi selama 24 jam lalu dihitung secara langsung.

Uji Kompatibel Isolat *Bacillus* sp., *Vibrio* sp. dan BFA dalam Media SWC Cair

Suspensi isolat *Bacillus* dan BFA dengan kepadatan 10^5 sel/ml dan *Vibrio* sp. sebanyak 10^3 sel/ml ke dalam 16 ml media SWC cair lalu diinkubasi secara anaerob, pemberian cahaya lampu dan pada suhu ruang selama 4 hari. Kontrol isolat *Bacillus*, *Vibrio* sp. dan BFA yang ditumbuhkan secara terpisah dengan kepadatan yang sama dengan perlakuan.

Selanjutnya kultur perlakuan dan kontrol *Vibrio* diambil dan dibuat pengenceran sampai dengan 10^{-2} kemudian diambil 1 ml dari setiap pengenceran untuk diinokulasikan secara *pour plate* ke dalam media TCBS. Kontrol dibuat seri pengenceran hingga 10^{-7} lalu diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} lalu diinokulasikan secara *pour plate* ke dalam media SWC agar.

Setelah inkubasi selama 24 jam kepadatan *Vibrio* sp. perlakuan dan kontrol dihitung

secara langsung. Semua perlakuan dibuat dalam tiga ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi dan Karakterisasi Isolat *Bacillus* sp. Penghasil Antibakteri Penghambat *Vibrio* sp.

Setelah dilakukan seleksi dari 77 isolat, didapatkan 4 jenis isolat *Bacillus* sp. yang positif menghasilkan zona jernih (Tabel 1). Zona jernih yang terbentuk menandakan adanya reaksi penghambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. hal ini dapat terjadi karena munculnya zat antibakteri dari isolat bakteri *Bacillus* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri bersifat Gram negatif. Zona jernih pada media dapat terbentuk karena bakteri *Vibrio* tidak dapat tumbuh disekitar koloni isolat *Bacillus*. Isolat yang menunjukkan pertumbuhan yang baik pada cekaman garam ekstrim yaitu isolat IL2K8 dan ID2K1 (Tabel 1). Selain itu isolat IL2K8 dan ID2K1 juga menunjukkan pertumbuhan yang baik pada pH 7 dan 10, namun tidak ada isolat yang tumbuh pada pH 4 (Tabel 1).

Bakteri dapat tumbuh dalam kadar garam yang luas dengan cara mempertahankan keseimbangan osmotik selnya (Marihati *et. al*, 2014). Bakteri juga dapat tumbuh dalam kisaran konsentrasi ion hidrogen (pH) yang luas dari pH 2 hingga 9. Berdasarkan ketahanannya terhadap pH, bakteri dibedakan menjadi bakteri asidofilik yaitu bakteri yang hidup pada pH asam, bakteri alkalofilik yaitu bakteri yang hidup pada pH basa dan bakteri neutrofilik yaitu bakteri yang hidup pada pH normal. *Bacillus* merupakan jenis bakteri bersifat neutrofilik yang dapat hidup dalam kisaran pH 5 hingga 9. Bakteri netrofilik pada umumnya tidak dapat tumbuh pada pH yang terlalu asam atau terlalu basa, namun bakteri ini dapat tetap bertahan hidup dengan melakukan homeostasis pH atau kemampuan mikroba untuk mengontrol pH internalnya agar dapat bertahan (Moat *et. al*, 2002). Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim dibutuhkan bakteri untuk mengkatalis reaksi metabolisme yang berhubungan dengan pertumbuhan

bakteri, antara lain enzim RNA polimerase, yang berperan dalam proses transkripsi pada sintesis protein. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim tersebut (Suriani *et. al*, 2013). Konsentrasi ion H^+ akan meningkat apabila pH di lingkungan asam, ion H^+ ini akan mempengaruhi sisi aktif enzim (Ottolenghi, 1970).

Transpor ion-ion esensial akan terhambat apabila pH di lingkungan menjadi asam, hal ini terjadi karena permeabilitas membran terhadap ion proton naik sehingga sel tidak mampu menghasilkan Adenosin Trifosfat (ATP) dan terjadi kegagalan proses respirasi menyebabkan pertumbuhan sel lambat kemudian mati (Wang *et. al*, 1079)

Kemampuan bakteri untuk tumbuh pada cekaman lingkungan yang ekstrim menunjukkan bahwa isolat dapat bertahan pada berbagai kondisi lingkungan. Kemampuan bakteri probiotik untuk hidup pada kondisi ekstrim diperlukan untuk hidup dengan baik di dalam maupun di luar tubuh organisme inang (Triyanto, 2009).

Setelah dilakukan uji cekaman terhadap kadar garam dan pH didapatkan 2 isolat yang dapat dilanjutkan pada uji patogenisitas. Isolat yang memiliki sifat patogen dilihat dari tingkat kejernihan yang terbentuk pada media agar darah. Isolat ID2K1 diketahui memiliki sifat α (alfa) hemolisis dan isolat IL2K8 memiliki sifat γ (gamma) hemolisis (Tabel 1).

Hemolisis darah dibagi dalam 3 jenis, yaitu alfa (α) hemolisis, beta (β) hemolisis dan gamma (γ) hemolisis. alfa (α) hemolisis merupakan kemampuan melisiskan sebagian sel darah merah dan hemoglobin, beta (β) hemolisis yaitu yang mampu melisis seluruh sel darah merah dan hemoglobin, gamma (γ) hemolisis yaitu yang tidak menunjukkan kemampuan hemolisis apapun [9]. Bakteri yang bersifat hemolitik dapat menghasilkan metabolik sekunder yang dapat melisiskan sel darah. Hemolisin merupakan salah satu zat yang dihasilkan bakteri yang dapat melisiskan darah. Hemolisin diketahui dapat menghancurkan hemoglobin dan

mengurangi jumlah eritrosit dalam darah (Le Marechal *et. al*, 2011). Kemampuan bakteri dalam menghemolisis darah merupakan salah satu faktor virulensi yang umum dimiliki oleh bakteri patogen (Lestari *et. al*, 2016).

Bacillus sp. IL2K8 tidak memiliki sifat patogen. Isolat tersebut selanjutnya diuji kepekaan terhadap antibiotik menggunakan lima jenis antibiotik yaitu ampicilin, streptomisin, trimetoprim, asam nalidiksat dan kloramfenikol. Dari hasil uji didapatkan kepekaan yang berbeda terhadap antibiotik. Isolat diketahui peka terhadap antibiotik trimetoprim dan bersifat resisten terhadap ampicilin, streptomisin, kloramfenikol dan asam nalidiksat (Tabel 1). Isolat IL2K8 peka terhadap antibiotik trimetoprim. Antibiotik trimetoprim berfungsi menghambat sintesis asam folat. Resistensi suatu bakteri terhadap antibiotik dapat disebabkan oleh adanya mutasi gen dalam kromosomnya dan atau plasmidnya (Sudigdoadi, 2015).

Bakteri yang memiliki gen-gen resistensi akan mengekspresikan enzim yang secara spesifik dapat menghancurkan atau menghalangi keefektifan antibiotik-antibiotik tertentu. Gen resistensi tersebut dibawa oleh plasmid yang dikenal sebagai plasmid R atau resistensi (Campbell *et. al*, 2012). Hal ini didukung oleh pernyataan Sudigdoadi (2015) bahwa bakteri yang resisten terhadap kloramfenikol dapat menghasilkan enzim kloramfenikol asetiltransferase yang dapat merusak aktivitas dari kloramfenikol. Pembentukan enzim ini berada dibawah kontrol plasmid.

Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat memiliki dampak positif dan negatif. Salah satu sifat probiotik yang baik yaitu tahan terhadap antibiotik (Malago *et. al*, 2011). Sedangkan dampak negatifnya adalah apabila isolat bakteri bermutasi dari bakteri nonpatogen menjadi patogen, seperti pada percobaan yang dilakukan Frederick Griffith dalam Campbell (2012) yang menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus pneumoniae* nonpatogen dapat menjadi patogen apabila ditumbuhkan bersama *Streptococcus pneumoniae* patogen yang telah mati. Selain itu bakteri patogen juga

dapat menjadi resisten terhadap antibiotik apabila bakteri mengambil plasmid dari bakteri yang memiliki kemampuan resistensi terhadap antibiotik. Penelitian menunjukkan bahwa gen resistensi antibiotika *Staphylococcus epidermidis* dapat dipindahkan ke *Staphylococcus aureus* dalam kondisi *in vivo* maupun *in vitro* (Forbes, dan Schaberg. 1983).

Bakteri patogen diketahui dapat memperoleh gen resistensi antibiotik dari lingkungan melalui transfer gen horizontal yaitu transformasi, transduksi atau konjugasi. Konjugasi dianggap memiliki pengaruh terbesar pada penyebaran gen resisten antibiotik (Wintersdorff *et. al*, 2016).

Uji Kompatibel Isolat *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp. dalam Media SWC Cair

Hasil yang didapatkan yaitu pertumbuhan bakteri isolat *Bacillus* sp. maupun *Vibrio* sp. bersifat fluktuatif. Namun, pertumbuhan isolat *Bacillus* lebih tinggi dibandingkan dengan *Vibrio* sp., hal ini karena isolat *Bacillus* sp. mampu menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. walaupun tidak dapat membunuh *Vibrio* sp. sepenuhnya (Gambar 1). Isolat bakteri *Bacillus* sp. tidak dapat membunuh bakteri *Vibrio* sp. dapat disebabkan karena sifat antibakteri yang dihasilkan oleh isolat hanya menghambat pertumbuhan bakteri lawan (bakteriostatik), tidak bersifat membunuh bakteri (bakterisidal) sehingga *Vibrio* sp. masih dapat tumbuh kembali. Hasil kultur bersama isolat *Bacillus* dan *Vibrio* sp. tidak menunjukkan penurunan pertumbuhan bakteri *Vibrio* yang signifikan, hal ini dapat terjadi karena beberapa faktor yang dapat mempengaruhi besar kecilnya aktivitas penghambatan zat antibakteri antara lain jenis dan umur dari bakteri penghasil bakteriosin dan bakteri uji (Noaman *et. al*, 2014). Antibiotik digolongkan sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofitik dan antagonis.

Antibiotik atau antibakteri memiliki mekanisme berbeda-beda dalam menghambat sel bakteri diantaranya

dengan cara menghambat sintesa protein dan asam nukleat, kerusakan dan penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel target dan penghambatan kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri (Sudigdoadi, 2015). Bakteriostatik menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuh. Senyawa bakteriostatik umumnya menghambat sintesis protein pada sel bakteri (Madigan *et. al*, 2000). Pertumbuhan bakteri yang fluktuatif dapat dikarenakan bakteri mengalami pertumbuhan kembali setelah mengalami penurunan pertumbuhan. Hal tersebut disebabkan karena sel-sel bakteri lain yang telah mengalami kematian menghasilkan sumber nutrisi baru, sel bakteri ini mengalami penguraian sehingga menghasilkan sumber nutrisi baru yang dapat dimanfaatkan bakteri yang masih hidup sebagai bahan metabolismenya kembali (Respati *et. al*, 2017).

Uji Kompatibel Isolat *Bacillus* sp., BFA dan *Vibrio* sp. dalam Media SWC Cair

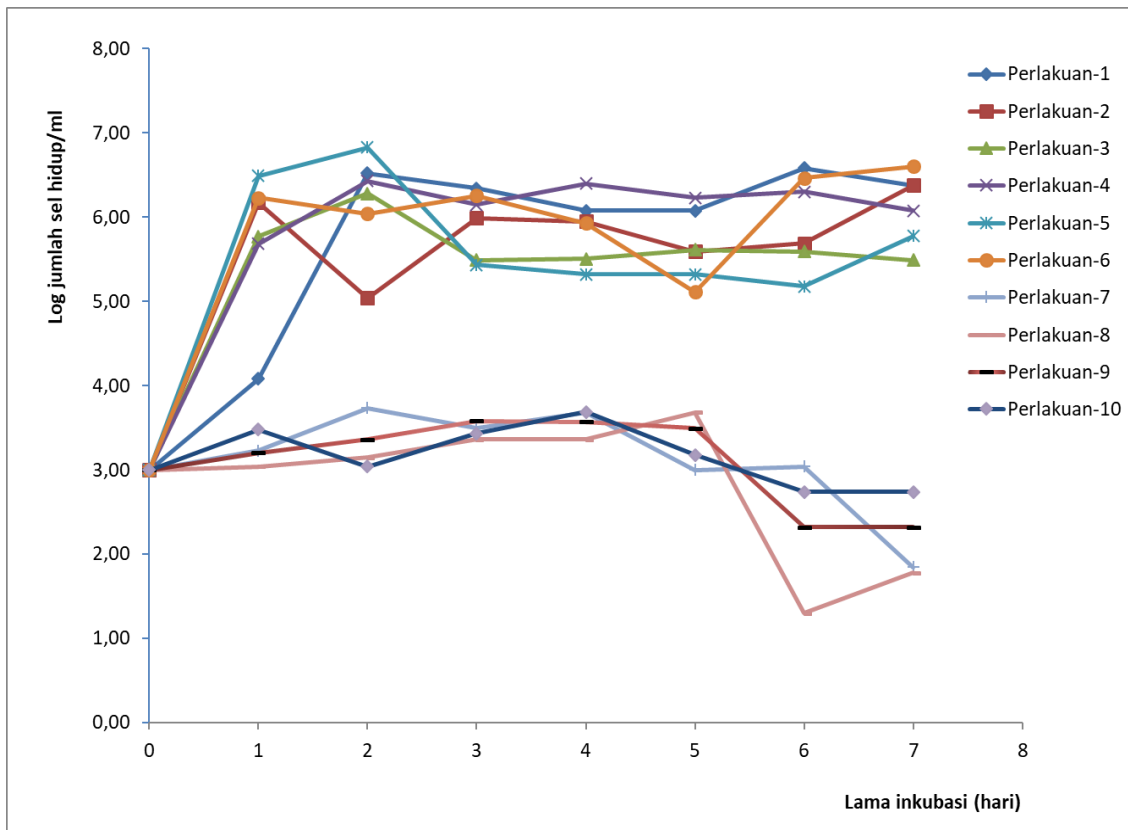
Isolat *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp. diuji kembali dengan kultur bersama dengan penambahan isolat BFA. Dari uji ini didapatkan hasil bahwa *Vibrio* sp. mengalami kematian setelah kultur bersama isolat IL2K8 dan BFA selama 4 hari. Pada kontrol *Vibrio* sp. jumlah sel akhir bakteri *Vibrio* sp. mengalami penurunan namun tidak lebih rendah dari perlakuan kultur bersama *Vibrio* sp. dengan isolat *Bacillus* IL2K8. Perlakuan dengan menambahkan BFA dan isolat

Bacillus sp. ternyata dapat membantu menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. hingga 100% (Tabel 2). Isolat *Bacillus* dengan BFA mampu menekan pertumbuhan *Vibrio* sp. karena BFA memiliki waktu hidup yang lebih lama dan isolat *Bacillus* memiliki zat anti mikroba yang dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan Widiyanto *et. al*, 1998), yaitu bakteri BFA diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

Tabel 1. Seleksi dan Karakterisasi Isolat *Bacillus* sp.

Jumlah Isolat	Uji Antagonis	Uji Cekaman Garam (%)			Uji Cekaman pH			Uji Patogenisitas			Kepekaan Antibiotik				
	Zona Jernih	0	3	6	4	7	10	α	β	γ	A	Str	T	AN	C
L1I1, L2I2, L2I3, L2I4, ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., ..., IL2K9	L2I4	+	+	+	-	+	+	TU	TU	TU	TU	TU	TU	TU	TU
	A2I4	-	-	+	-	-	-	TU	TU	TU	TU	TU	TU	TU	TU
	ID2K1	++	++	++	-	++	++	+	-	-	TU	TU	TU	TU	TU
	IL2K8	++	++	++	-	++	++	-	-	+	R	R	S	R	R
77	4		2			2			1				1		

Keterangan; α = Hemolisis sebagian
 β = Hemolisis total
 γ = Tidak terjadi hemolisis
A = Ampisilin
Str = Streptomisin
T = Trimetoprim
AN = Asam Nalidiksat
C = Kloramfenikol
TU = Tidak diuji
R = Resisten
S = Peka
+ = Terjadi reaksi / Pertumbuhan koloni sempit
++ = Pertumbuhan koloni luas
- = Tidak terjadi reaksi
L2I4, A2I4, ID2K1, IL2K8 = Isolat *Bacillus* sp.



Gambar 1. Grafik pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. (garis terang) dan *Vibrio* sp. (garis samar) setelah kultur bersama

Keterangan;

Perlakuan 1 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* ID2K1 (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* ID2K1 dan *Vibrio* sp.)

Perlakuan 2 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* IL2K8 (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* IL2K8 dan *Vibrio* sp.)

Perlakuan 3 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* ID2K1 dan IL2K8 (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* ID2K1 dan IL2K8 serta *Vibrio* sp.)

Perlakuan 4 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* ID2K1 (data hitung dari kultur Isolat *Bacillus* ID2K1)

Perlakuan 5 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* IL2K8 (data hitung dari kultur Isolat *Bacillus* IL2K8)

Perlakuan 6 = Pertumbuhan Isolat *Bacillus* ID2K1 dan IL2K8 (data hitung dari kultur Isolat *Bacillus* ID2K1 dan IL2K8)

Perlakuan 7 = Pertumbuhan *Vibrio* sp. (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* IL2K8 dan *Vibrio* sp.)

Perlakuan 8 = Pertumbuhan *Vibrio* sp. (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* ID2K1 dan *Vibrio* sp.)

Perlakuan 9 = Pertumbuhan *Vibrio* sp. (data hitung dari kultur bersama Isolat *Bacillus* ID2K1 dan IL2K8 serta *Vibrio* sp.)

Perlakuan 10 = Pertumbuhan *Vibrio* sp. (data hitung dari kultur *Vibrio* sp.)

Tabel 2. Pertumbuhan *Vibrio* sp. Setelah Kultur Bersama

Perlakuan	Jumlah Sel Awal (sel/ml)			Jumlah Sel <i>Vibrio</i> sp. Akhir (sel/ml)
	<i>Vibrio</i>	IL2K8	BFA	
A	-	1×10^5	-	-
B	-	-	1×10^5	-
C	1×10^3	-	-	$8,6 \times 10^2$
D	1×10^3	1×10^5	-	$1,2 \times 10^2$
E	1×10^3	1×10^5	1×10^5	0

Keterangan;

A = Isolat *Bacillus* IL2K8 (kontrol)

B = BFA (kontrol)

C = Bakteri *Vibrio* sp. (kontrol)

D = Kultur Bersama *Vibrio* sp. dan Isolat *Bacillus* IL2K8

E = Kultur Bersama *Vibrio* sp., Isolat *Bacillus* IL2K8 dan BFA

KESIMPULAN

Isolat *Bacillus* sp. IL2K8 adalah isolat yang diseleksi dari 77 isolat yang berasal dari lumpur kawasan hutan mangrove Hanura yang dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. setelah diuji dengan metode *Kirby Bauer*. Isolat IL2K8 dapat tumbuh dengan kadar garam 0 %, 3 %, 6 % dan nilai pH 7 serta 10. IL2K8 tidak memiliki sifat patogenitas, resisten terhadap antibiotik amplisin, striptomisin, asam nalidiksat dan kloramfenikol namun peka terhadap antibiotik trimetoprim. Dalam kultur bersama pada media cair isolat *Bacillus* IL2K8 bersama dengan bakteri fotosintetik anoksigenik dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Anurogo, D. (2014). Probiotik: Problematika dan Progresivitasnya. *Medical Review*, 27(3), 46-57.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, L.A. Urry, M.L. Cain, S.A. Wasserman, P.V. Minorsky, R.B. Jackson. (2012). *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Chumpol S, D., Kantachote, T. Nitoda dan H. Kanzaki. (2017). *The Roles Of Probiotic Purple Nonsulfur Bacteria To Control Water Quality And Prevent Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) For Enhancement Growth With Higher Survival In White Shrimp (Litopenaeus vannamei) During Cultivation*. *Aquaculture*. Diakses dari <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848616312935>
- Feliatra E. dan E. Suryadi. (2004). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*, 6(2), 75-80.
- Forbes, B.A. dan D.R. Schaberg. (1983). Transfer of Resistance Plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: Evidence for Conjugative Exchange of Resistance. *Journal of Bacteriology*, 153(2), 627-634.
- Hamtni. (2014). *Isolation and Selection of Bacillus sp. from Catfish (Clarias sp.) as well Its potential as a Probiotic*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Le Marechal, C., Seyffert, N., Jardin, J., Hernandez, D., Jan, G., Rault, L., Azevedo V., Francois, P., Schrenzel, J., van de Guchte, M., Even, S., Berkova, N., Thiery, R., Fitzgerald, J.R., Vautor, E., Le Loir, Y. (2011). Molecular Basis of Virulence in *Staphylococcus aureus* mastitis. *PloS One*, 6, e27354.
- Lestari, W.L., Agung B., Artini P. (2016). Bakteri Heterotrof Aerobik Asal Saluran Pencernaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dan Potensinya sebagai Probiotik. *Bioteknologi*, 13(1), 9-17. doi: 10.13057/biotek/c130102.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, J. Parker. (2000). *Brock Biology of Microorganism*. New Jersey : Prentice-hall. Inc.
- Malago, J.J., J.G.L. Koninkx dan R. Marinsek. (2011). *Probiotic Bacteria and Enteric Infection. Cytoprotection of Probiotic Bacteria*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg London.
- Marihati., Nani, H., Muriyati., Nilawati., Syarifudin, E., dan Danny, W, H.. (2014). Penggunaan Bakteri Halofilik Sebagai Biokatalisator Untuk Meningkatkan Kualitas Dan Produktifitas Garam NaCl Di Meja Kristalisasi. *Jurnal Riset Industri*. 8(3), 191 – 196.
- Moat, A. G., J. W. Foster, dan M. P. Spector. (2002). *Microbial Physiology fourth edition*. New York: Wiley-Liss, Inc.
- Noaman, N. H., A. Fattah, M. Khaleafa dan S. H Zaky. (2014). Factors Affecting Antimicrobial Activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Microbiological Research*, 159 (4): 395-402. Diakses dari <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501304000722>.
- Ottolenghi. P. 1970). The Effect of Hydrogen Ion Concentration on The Simplest Steady-State Enzyme System. *Biochem. J*, 123, 445-453.
- Puspitasari, Putra dan Handayani. (2017). Senyawa Antibiotik dari *Bacillus* sp 1 (HA1) yang Bersimbiosis pada Spon

- Laut *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 134-140.
- Respati, N.Y., E. Yulianti dan A. Rakhmawati. (2017). Optimasi Suhu Dan pH Media Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat Dari Isolat Bakteri Termofilik. *Jurnal Prodi Biologi*, 6(7).
- Samosir, M. F., D. Suryanto dan Desrita. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik Pada Saluran Pencernaan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Jurnal Bidang Manajemen Sumberdaya Perairan*, 15(1).
- Sari, Ranap J., Feliatra dan D. Yoswaty. (2015). The Antagonists Test of Probiotic Bacteria Isolated from Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon fabricus*) Against Pathogens *Pseudomonas* sp, *Aeromonas hydrophyla*, *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Online Mahasiswa*, 2(1).
- Sudigdoadi, Sunarjati. (2015). *Mekanisme Timbulnya Resistensi antibiotik Pada Infeksi Bakteri*. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Sumardi, C.N. Ekowati, K. Handayani, Nurhayati. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Prosiding SNSMAIP III-2012*. ISBN No. 978-602-98559-1-3.
- Suriani, Sanita., Soemarno, dan Soeharjono. (2013). Pengaruh Suhu dan Ph terhadap Laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya. *J-PAL*, 3(2).
- Triyanto, Isnansetyo, A., Prijambada, I. D., Widada, J., dan Tarmiawati, A. (2009). Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Infeksi Bakteri Proteolitik Dari Lumpur Kawasan Hutan Bakau. *Jurnal Perikanan*, XI(1), 13-18.
- Vaseeharan, B. dan Ramasamy, P. (2003). Control Of Pathogenic *Vibrio* Spp . By *Bacillus Subtilis* BT23 , A Possible Probiotic Treatment For Black Tiger Shrimp *Penaeus Monodon*. *The Society of Applied Microbiolog*, 83–87.
- Wang, D.I.C., Clooney, C.L., Demain, A.L., Dunnill, P., Humprey, A.E. dan Lily, M.D. (1979). *Fermentation and Enzym Technology*. John Wiley and Sons. New York.
- Wardika, A. S., Suminto, dan Sudaryono, A. (2014). Pengaruh Bakteri Probiotik Pada Pakan Dengan Dosis Berbeda Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 9-17.
- Widiyanto, T., Suwantol, A., Adidjuwana, H., dan Kaswadi, R. (1998). Kemampuan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Dalam Menurunkan Konsentrasi H₂S dan Menghambat Pertumbuhan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 3(1), 17-22.
- Wintersdorff CJHv, J. Penders, J.Mv. Niekerk, N.D. Mills, S. Majumder, L.Bv. Alphen, P.H.M. Savelkoul, P.F.G. Wolffs. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7, 173.