

ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfofa/authorDashboard/submission/98022

Metamorfofa: Journal of Biological Science

### permintaan revisis

**Participants**

Editor in Chief (metamorfofaadmin)  
sun Susun Susun Prawanayoni, susunbio (prawanayoni)  
Anak Agung Gede Indraningrat (indra\_ningrat)

**Messages**

Note	From
Silahkan melakukan revisi sesuai permintaan reviewer. Perhatikan format penulisan, c stle penulisan daftar pustaka, tahun dan jumlah artikel (minimal 15 artikel). Hasil indek similaritas tdk melebihi 20 %	metamorfofaadmin Mar 05
<p>Dear Editor,</p> <p>Kami mengucapkan terima kasih untuk feedback yang diberikan pada manuscript yang telah kami. Kami sudah merevisi artikel sesuai masukan dari reviewer dan editor meliputi judul artikel, tampilan data, pembahasan, kesimpulan dan pustaka sudah diperbaharui sesuai komentar reviewer.</p> <p>Salam,</p> <p>Sucitra et al</p>	indra_ningrat Mar 12

View Site | Indra\_ningrat

Search | Upload File

Add discussion

Replies | Closed

at | 1 |

by OJS | Open Journal Systems

**Skrining Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut**

*Euचेuma spinosum*

Antibacterial Screening of Bacteria Associated with Seaweed *Euचेuma spinosum*

**INTISARI**

Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang berinteraksi kuat dengan mikroorganismenya khususnya dengan kelompok bakteri. Bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut dapat memproduksi metabolit sekunder untuk mendukung pertumbuhan dan melindungi inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *Euचेuma spinosum* dan menskrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang diperoleh. Hasil isolasi bakteri dari *E. spinosum* diperoleh 32 isolat dengan sebaran 14 isolat dari media umum dan 18 isolat dari media khusus. Pengamatan morfologi dari 32 isolat menunjukkan bahwa tujuh isolat bakteri tergolong Gram positif dan 25 isolat bakteri Gram negatif. Sedangkan 25 isolat menunjukkan katalase positif dan tujuh isolat katalase negatif. Hasil pre-skrining antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* atcc 25923 dan *Streptococcus mutans* fnc 0405) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* atcc 25922 dan *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603) menunjukkan 22 isolat memiliki aktivitas antibakteri. Isolasi PCAR1 dan SMPR9 menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Streptococcus mutans* berturut-turut sebesar 9,21 mm dan 7,89 mm. Hasil penelitian ini secara umum memberikan gambaran potensi isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Kata Kunci : rumput laut, *Euचेuma spinosum*, isolasi, antibakteri

**ABSTRACT**

Seaweeds have a strong association with microorganisms, especially with bacterial groups. The role of seaweed-associated bacteria in general is to synthesize secondary metabolites to support growth and to protect their host. This study aimed to isolate bacteria associated with seaweed *Euचेuma spinosum* and to screen their antibacterial activities. Cultivation of bacteria-associated with *E. spinosum* resulted 32 bacterial isolates, which 14 isolates obtained from general media and 18 isolates were cultivated from specific media targeted for Actinobacteria. Morphological observations of 32 isolates showed that seven bacterial isolates were Gram-positive and 25-gram negative bacterial isolates. While 25 isolates showed positive catalases and seven isolates negative catalases. Antibacterial screening based on perpendicular streak method against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* atcc 25923 and *Streptococcus mutans* fnc 0405) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* atcc 25922 and *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603) showed 22 isolates with antibacterial activity. Isolates PCAR1 and SMPR9 showed the highest antibacterial activity against *Streptococcus mutans* namely 9.21 mm and 7.89 mm respectively. Our results overall indicated the potential of bacterial isolates associated with *E. spinosum* as the source of antibacterial compounds.

Keyword : seaweed, *Euचेuma spinosum*, isolation, antibacterial

**PENDAHULUAN**

Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang tumbuh di perairan dangkal dengan

Commented [sa1]: Skrining bakteri atau skrining aktivitas?

Commented [sa2]: Bakteri sebagai antibakteri apa?

Commented [sa3]: Apa indikasi kuat?

Commented [sa4]: Berupa apa?

Commented [sa5]: Fungsi senyawa metabolit apa yang melindungi inang?

Commented [sa6]: Isolasi dan skrining bakteri ....

Commented [sa7]: Metode tidak ada

Commented [sa8]: Sebutkan mediana

Commented [sa9]: Tidak untuk dibahas terpisah

Commented [sa10]: Bagaimana dengan S. aureus dan K. Pneumonia?

Commented [sa11]: Lay out tidak sesuai

morfologi yang menyerupai batang, akar dan daun yang merupakan kesatuan utuh dari bentuknya (Supriyantini *et al.*, 2018). Rumput laut memiliki lebih dari 782 jenis yang tersebar di seluruh Indonesia dan berdasarkan pigmennya jenis tersebut terdiri dari 196 alga hijau, 134 alga cokelat, 452 alga merah (Ulfah *et al.*, 2018). Dari beragam jenis rumput laut, jenis *Eucheuma* adalah salah satu anggota kelas *Rhodophyceae* yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki kandungan agar dan karagenan yang lebih tinggi dari rumput laut lainnya. Jenis *Eucheuma spinosum* merupakan rumput laut yang banyak dibudidayakan di Bali salah satunya karena kandungan karagenan yang cukup tinggi untuk keperluan industri kosmetik, tekstil dan obat-obatan (Hudha *et al.*, 2012).

Rumput laut *E. spinosum* seperti halnya biota laut pada umumnya berasosiasi dengan mikroorganisme khususnya bakteri Hal ini karena permukaan rumput menyediakan substrat yang cocok untuk pengendapan mikroorganisme dan juga mengeluarkan berbagai zat organik dan senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai nutrisi

untuk multiplikasi bakteri (Hayati *et al.*, 2019). Sementara itu sebagai timbal balik, bakteri memproduksi senyawa metabolit sekunder untuk mendukung pertumbuhan inangnya. Senyawa metabolit sekunder tersebut akan membantu mempertahankan diri dari organisme melawan penyakit, pertumbuhan atau hormon (Ginting *et al.*, 2019).

Sejauh ini penelitian yang mengkaji isolat bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dan potensi antibakteri yang dimiliki masih terbatas. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mempelajari morfologi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* lokal Bali. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menskrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum*.

**BAHAN DAN METODE**

**Pengambilan Sampel *E. spinosum***

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021 Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Sampel *E. spinosum* diambil dari pantai di Desa Patas

Commented [sa20]: Bukan pustakanya

Commented [sa12]: Gunakan Pustaka

Commented [sa13R12]: Kalimat kurang jelas

Commented [sa21]: Cari senyawa metabolitnya

Commented [sa14]: Bukan Pustaka primer

Commented [sa22]: Bukan Pustaka primer

Commented [sa23]: Gunakan referensi primer

Commented [sa24]: Cari referensi

Commented [sa15]: Pengulangan kalimat

Commented [sa16]: Pengulangan kalimat

Commented [sa25]: Tidak sesuai dengan judul

Commented [sa26]: Tata tulis

Commented [sa17]: Ganti kata yang tepat

Commented [sa18]: Focus ke bakteri

Commented [sa19]: Cari jenis senyawanya

Singaraja, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali (8.186 LS, 114.813 BT). Sampel diambil secara aseptik menggunakan scalpel steril dan ditampung pada botol Falcon 50 mL steril. Botol berisi sampel disimpan di dalam kotak *styrofoam* untuk selanjutnya ditransportasikan ke Laboratorium Fakultas Pertanian. Sesampainya di laboratorium sampel disimpan pada suhu 4°C sampai isolasi bakteri dikerjakan.

**Media isolasi bakteri**

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis media agar yang menargetkan bakteri secara umum yaitu *Zobell Marine Agar* (ZMA, Himedia), *Nutrient agar* (NA, Himedia), *Plate Count Agar* (PCA, Oxoid). Selain itu digunakan pula tiga media khusus untuk menargetkan aktinobakteria yaitu ISP-1 (5.0 gram/L *peptone*, 3.0 gram/L *yeast extract*, 20 gram/L *bacto agar*), ISP-2 (4.0 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L *malt extract*, 4 gram/L *dextrose*, 20 gram/L *bacto agar*) dan *Starch M protein agar* (SMP, Himedia).

Pembuatan media pertumbuhan bakteri dilakukan dengan cara menimbang media sesuai dengan takaran media yang sudah diinstruksikan pada kemasan atau formulasi yang telah ditentukan. Media agar yaitu: NA, PCA, ISP-1 dan ISP-2 dilarutkan pada *artificial seawater* (33 gram/L) untuk menjaga tekanan osmosis bakteri yang akan diisolasi sehingga menyerupai kondisi air laut. Sementara itu, setiap media yang menargetkan aktinobakteria (ISP-1, ISP-2 dan *starch M-protein*) disuplementasi dengan *nystatin* dan *nalidixic acid* untuk mencegah pertumbuhan bakteri non-aktinobakteria dan jamur. Semua media agar disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media yang telah steril secara aseptik di dalam *laminar air flow* kemudian dituang pada cawan petri steril dan didiamkan pada suhu ruang hingga memadat.

**Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum***

Sampel rumput laut dicuci bersih dengan *artificial seawater* steril sebanyak tiga kali. Sepuluh gram *E. spinosum* ditimbang dan dipotong kecil-kecil dengan memastikan seluruh

Commented [sa27]: Dibuat singkat

Commented [sa28]: Pelarutnya apa?

Commented [sa29]: pustaka

Commented [sa30]: Tidak perlu

bagian *thallus* termasuk bagian interior dan eksterior tercampur secara merata. Sampel dihomogenkan dengan cara ditumbuk dengan lumpang dan pastel serta ditambahkan *artificial seawater* steril sebanyak 25 mL.

Sampel *E. spinosum* diencerkan secara bertingkat pada 9 mL *artificial seawater* steril ( $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ ). Dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  diambil 1 mL untuk diinokulasi menggunakan *cotton swab* steril pada media pertumbuhan yang telah ditentukan. Setiap cawan petri yang berisi media agar dibungkus dengan parafilm agar mencegah kontaminasi dan cawan petri dan diinkubasikan pada suhu 28°C. Pengamatan berkala dilakukan dengan setiap 3 hari selama dua minggu untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri yang muncul pada setiap media agar.

**Identifikasi isolat bakteri**

Koloni bakteri dengan morfologi berbeda yang tumbuh pada media agar mengikuti kriteria *colony morphology code* yang berdasarkan karakteristik yang meliputi bentuk, permukaan,

warna dan elevasi (Indraningrat *et al.*, 2019). Sebagai contoh, koloni isolat dengan kode 12314 akan diterjemahkan sebagai bakteri yang memiliki morfologi bulat, permukaan yang kasar dan kusam, warna buram dan permukaan berbentuk kawah (Gambar 1). Untuk bakteri non aktinobakteria dimurnikan pada media Zobell *marine agar*, sedangkan untuk kandidat aktinobakteria dimurnikan pada ISP-2 agar. Koloni dengan morfologi berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda dan setiap koloni terpilih yang selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram ((Sulistijowati R and Mile L. 2016; Nandina & Pujiyanto, 2019) dan dilakukan uji katalase (Ibrahim *et al.*, 2015).

Colony morphology specifications				
Consecutive numbering	FORM	SURFACE	COLOR	ELEVATION
0		no variation		
1		veined	opaque	
2		rough	cloudy	
3		dull	translucent	
4		wrinkled	iridescent	
5		wet		
6				
CMC	1	2 3	1	4

Gambar 1. Skema pemilihan morfologi bakteri berdasarkan metode *colony morphology code* (Indraningrat *et al.*, 2019).

Commented [sa35]: Bukan Pustaka primer

Commented [sa36]: Tidak perlu

Commented [sa31]: kalimat

Commented [sa32]: 1 mL kenapa menggunakan cotton swab?

Commented [sa37]: Gunakan Pustaka primer

Commented [sa33]: Tidak perlu

Commented [sa38]: Tidak perlu

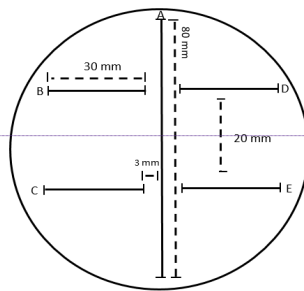
Commented [sa34]: Kenapa yang dihitung pertumbuhan?

Commented [sa39]: Bukan Pustaka primer

**Skrining Aktivitas antibakteri**

Bakteri dengan morfologi yang berbeda diskriming kemampuan antibakterinya dengan metode *perpendicular streak method* terhadap bakteri uji pada media LB agar (10 gram/L *peptone*, 5 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L NaCl, 20 gram/L *bacto agar*) (Indraningrat *et al.*, 2021). Secara singkat, pada sisi bagian bawah cawan petrik dibuat garis tegak lurus dan melintang dengan menggunakan marker. Pada garis tegak lurus, dilakukan *streak* isolat bakteri yang diuji pada media LB agar. Isolat bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C selama 2x 24 jam hingga koloni terbentuk jelas pada agar. Isolat bakteri diujikan terhadap empat bakteri uji yaitu bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* atcc 25923, *Streptococcus mutans* fnc 0405, dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* atcc 25922 dan *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603. Keempat bakteri uji ini di *streak* secara horizontal dengan memberikan jarak 3 mm dari koloni isolat bakteri yang ingin diuji (Gambar 2). *Agar plate* diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk (dalam mm) dihitung berdasarkan jarak pertumbuhan

bakteri oleh isolat bakteri terhadap masing-masing indikator. Sebagai interpretasi semakin jauh jarak tumbuh bakteri indikator dari isolat bakteri indikator dari isolat bakteri yang diuji mengidentifikasi daya yang lebih kuat.



Gambar 2. Skema *Perpendicular Streak Method* (Indraningrat *et al.*, 2021); A. isolat bakteri uji, B. *Staphylococcus aureus* atcc 25923, C. *Streptococcus mutans* fnc 0405, D. *Escherichia coli* atcc 25922, E. *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603

Commented [sa40]: Gunakan Pustaka primer

Commented [sa41]: Tidak perlu

Commented [sa43]: Gunakan Pustaka primer

Commented [sa42]: Munculkan di pendahuluan latar belakang penggunaan species2 ini

**HASIL**

**Karakteristik morfologi isolat bakteri**

**Commented [sa44]:** Isolasi Bakteri

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dengan metode *colony morphology code*, pewarnaan Gram dan uji katalase didapatkan total 32 isolat bakteri dengan rincian 14 isolat dari media umum dan 18 isolat dari media khusus (Tabel 2)

**Commented [sa45]:** Bahas hasil isolasi terlebih dahulu

Tabel 2. Morfologi isolat bakteri menurut CMC, Pewarnaan Gram dan Katalase

Kode isolat	A. Morfologi Isolat Bakteri dari <i>E. spinosum</i> Pada Media Umum				Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Katalase
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi			
ZR1	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplobasil	+
ZR2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
ZR3	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Basil	+
ZR4	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	-
ZR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Kokus	+
ZR6	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Basil	+
NAR1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
NAR2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	+
NAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Diplobasil	-
NAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplobasil	+
PCAR1	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus	+
PCAR2	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	+
PCAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
PCAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+

**Commented [sa46]:** Sebutkan nama media dan umur

**Commented [sa47]:** Gram + dan - jangan disajikan seperti minus dan plus

Keterangan: ZR: Media Zobell marine agar, NAR: Media Nutrient agar, PCAR: Media Plate count agar, + : Positif, - : Negatif.

B. Morfologi Isolat Bakteri dari Rumput Laut Pada Media Khusus							
Kode Isolat	Morfologi isolat				Pewarnaan		
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi	Gram	Bentuk Sel	Katalase
SMPR1	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	-
SMPR2X	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	+	Basil	+
SMPR2Y	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	4 Berwarna (Kuning)	4 (Berkawah)	+	Diplokokus	+
SMPR3	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Diplokokus	+
SMPR4	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Diplokokus	+
SMPR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Kokus	+
SMPR6	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	+	Basil	+
SMPR7	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	-
SMPR8	1 (Bulat)	3 (Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	1 (Datar)	-	Basil	+
SMPR9	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	3 (Membukit)	-	Kokus Berantai	+
SMPR10	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	+	Kokus	+
ISP1R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Kokus	-
ISP1R-2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
ISP1R-3	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus Berantai	-
ISP1R-4	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus	+
ISP2R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	-	Kokus	+
ISP2R-2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	-
ISP2R-3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+

Keterangan: SMPR: Media *Starch* m protein, ISP1R (*peptone, yeast extract, bacto agar*): Media ISP-1, ISP2R: Media ISP-2 (*yeast extract, malt extract, dextrose, bacto agar*), + : Positif, - : Negatif.

Commented [sa48]: Komen seperti tabel di atasnya



Hasil pewarnaan Gram pada Tabel dari isolat rumput laut *E. spinosum*, tujuh isolat (22 persen) merupakan Gram positif dan 25 isolat (78 persen) dan berdasarkan uji katalase pada 25 isolat (78 persen) memiliki katalase positif dan tujuh isolat (22 persen) tidak memiliki aktivitas enzim katalase (negatif).

**Evaluasi aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum***

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan teknik *perpendicular streak* menggunakan empat bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Zona Hambat Isolat dari *E. Spinosum*  
A. Zona Hambat Isolat *E. spinosum* dari Media Umum Terhadap Bakteri Uji

No	Kode Sampel	Zona Daya Hambat (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneu</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
1	ZR1	-	2,44	1,91	2,83
2	ZR2	2,39	2,08	1,12	1,55
3	ZR3	0,34	2,50	-	-
4	ZR4	1,34	0,85	2,11	-
5	ZR5	1,76	2,34	1,83	0,97
6	PCAR1	-	-	-	9,21
7	PCAR3	1,81	1,29	2,03	-

Keterangan: *E. coli* : *Escherichia coli* atcc 25922, *K. pneu* : *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus* atcc 25923, dan *S. mutans* : *Streptococcus mutans* fccc 0405.

B. Zona Hambat Isolat *E. spinosum* dari Media Khusus Terhadap Bakteri Uji

No	Kode Sampel	Zona Daya Hambat (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneu</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
1	SMPR 1	1,98	3,04	-	-
2	SMPR 2x	-	2,56	2,01	1,37
3	SMPR 2y	3,69	3,93	-	-
4	SMPR 4	1,61	1,27	0,47	-
5	SMPR 6	1,15	0,77	0,71	6,67
6	SMPR 7	-	0,52	-	0,95
7	SMPR 9	1,52	1,61	2,47	7,89
8	SMPR 10	-	1,65	1,26	2,30
9	ISP1R-1	1,23	-	-	1,28
10	ISP1R-2	-	-	-	0,81
11	ISP1R-3	1,64	1,52	-	-
12	ISP1R-4	1,57	1,28	1,53	2,03
13	ISP2R-1	1,46	-	-	-
14	ISP2R-2	2,58	1,16	2,3	1,55
15	ISP2R-3	-	0,76	0,95	0,94

Keterangan: *E. coli* : *Escherichia coli* atcc 25922, *K. pneu* : *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus* atcc 25923, dan *S. mutans* : *Streptococcus mutans* fccc 0405.

Pada Tabel 3 menunjukkan isolat yang mampu menghambat bakteri uji *E. coli* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,69 mm diikuti dengan isolat ISP2R-2 dan ZR2 dengan zona hambat berturut-turut sebesar 2,58 mm dan 2,39 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *E. coli* adalah isolat dengan kode ZR3 sebesar 0,34 mm.

Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *K. pneumoniae* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,93

Commented [sa49]: Tujuan isolasi untuk apa?

Commented [sa52]: Kenapa hany 15 isolat

Commented [sa53]: Data sebaiknya diulang dan disajikan dalam bentuk rata-rata dan SD

Commented [sa50]: Dari total isolate, belum ada prmbahasan proses skrining sehingga hanya ada 7 yang diuji

Commented [sa51]: Data sebaiknya diulang dan disajikan dalam bentuk rata-rata dan SD

mm diikuti dengan isolat SMPR1 dan SMPR2X dengan zona hambat berturut-turut sebesar 3,04 mm dan 2,56 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *K. pneumoniae* adalah isolat dengan kode SMPR7 sebesar 0,52 mm.

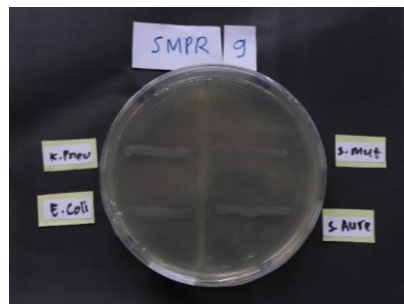
Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. aureus* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR9 dengan zona hambat sebesar 2,47 mm diikuti dengan isolat ISPR2-2 dan isolat ZR4 dengan zona hambat berturut-turut 2,30 mm dan 2,11 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. aureus*

adalah isolat dengan kode SMPR4 sebesar 0,47 mm.

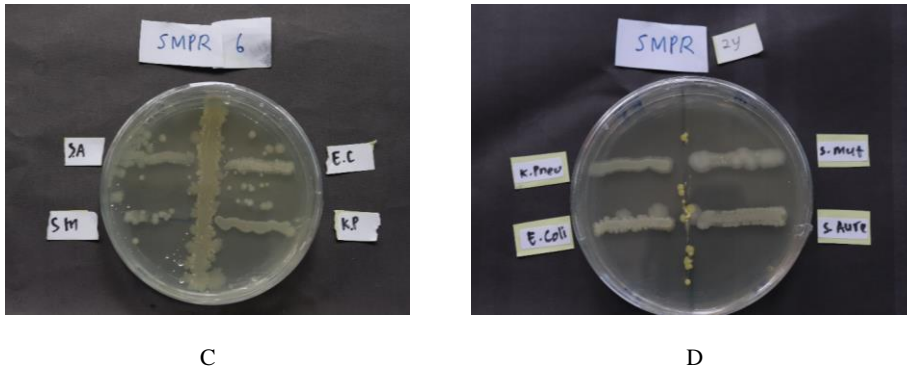
Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. mutans* tertinggi adalah isolat dengan kode PCAR1 dengan zona hambat sebesar 9,21 mm diikuti dengan isolat SMPR9 dan SMPR6 dengan zona hambat berturut-turut 7,89 mm dan 6,67 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. mutans* adalah isolat ISPIR-2 sebesar 0,81 mm. Zona daya hambat isolat kode PCAR1, SMPR9, SMPR6 dan SMPR2Y dapat dilihat pada Gambar 3.



A



B



Gambar 3. Daya hambat isolat rumput laut terhadap bakteri uji. A. Isolat PCAR1 memiliki zona daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 9,21 mm, B. Isolat SMPR9 memiliki zona daya hambat terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 7,89 mm dan C. Isolat SMPR6 memiliki zona daya hambat terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 6,67 mm, D. Isolat SMPR2Y memiliki zona daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Escherichia coli* sebesar 3,69 mm dan zona hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* sebesar 3,93 mm.

Commented [sa54]: Masuk ke apendik

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sebanyak 32 isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* telah diisolasi dengan menggunakan enam jenis media pertumbuhan berbeda. Tujuan penggunaan media tumbuh yang bervariasi adalah untuk mendapatkan sebanyak mungkin koloni bakteri yang bisa diisolasi. Secara umum, kandungan media menentukan jenis bakteri yang bisa ditumbuhkan pada media agar (Sari, 2019). Dalam penelitian ini media agar yang komposisinya tidak mengandung garam laut dilarutkan dengan *artificial seawater* (ASW) yang bertujuan untuk menjaga tekanan osmosis sehingga menyerupai kondisi air laut (Henson *et al.*, 2016). Diharapkan dengan kondisi tekanan osmosis yang sama maka bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dapat tumbuh pada media sintetik.

Koloni yang tumbuh pada media agar cukup bervariasi dan dengan sejumlah koloni memiliki kenampakan visual yang sama. Maka dari itu pemilihan koloni bakteri didasarkan pada metode *colony morphology code* yaitu suatu cara pengelompokan koloni berdasarkan kenampakan morfologinya. Koloni dengan kode CMC yang berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Tiga puluh dua isolat bakteri yang diisolasi mencirikan individu yang unik dan maka dari itu diduga mewakili jenis bakteri yang berbeda. Meskipun jumlah koloni yang didapat cukup bervariasi, sangat disadari bahwa tidak mungkin untuk mengisolasi seluruh bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum*. Hal ini karena secara natural tidak semua bakteri mampu tumbuh pada kondisi laboratorium khususnya pada media sintetik akibat tidak adanya interaksi dengan bakteri lain ataupun ketiadaan molekul pertumbuhan yang disintesis oleh inangnya yang dikenal sebagai *plate count anomaly* (Reguera, 2016). Hal ini dibuktikan dari hasil penelitian dengan pendekatan *culture-independent approach* yang melaporkan 24 filum bakteri berasosiasi pada rumput laut (Selvarajan *et al.*, 2019). Sedangkan hanya sekitar 0.5% dari jumlah tersebut yang dapat

tumbuh pada media agar yang menunjukkan kesenjangan hasil antara pendekatan *culture dependent* dan *culture independent approaches* (Lagier *et al.*, 2015). Seluruh isolat yang diperoleh pada penelitian ini hanya dikarakterisasi secara morfologi tanpa identifikasi secara molekuler sehingga tidak diketahui pengelompokan dari setiap isolat pada tingkatan filum. Amplifikasi dan sekuensing fragmen gen 16S rRNA gen merupakan tahapan lanjutan untuk memastikan identitas jenis dari isolat bakteri yang diperoleh khususnya isolat dengan aktivitas antibakteri.

Skrining antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum* menjadi tujuan khusus dari penelitian ini untuk mendapatkan isolat potensial yang dapat memproduksi senyawa antibakteri. Metode *perpendicular streak* dipilih karena relatif mudah dikerjakan dan dapat secara efektif menyeleksi aktivitas antibakteri dari suatu isolat tanpa perlu melakukan tahapan ekstraksi (Velho-Pereira & Kamat, 2011). Isolat bakteri yang mampu mensintesis senyawa antibakteri akan mendifusikan molekul aktifnya melalui media agar sehingga bakteri uji tidak akan mampu mendekati koloni dari isolat bakteri. Semakin jauh jarak bakteri uji dari isolat mengindikasikan aktivitas antibakteri yang kuat dari isolat (Chakraborty *et al.*, 2017).

Potensi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut sebagai sumber senyawa antibakteri telah menjadi fokus studi dalam satu dekade terakhir (Karthick & Mohanraju, 2018; Singh *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2011). Secara mikroskopis enam bakteri yang diisolasi dari media khusus yaitu isolat SMPR2X, SMPR2Y, SMPR6, SMPR10, ISP1R-3, ISP1R-4 memiliki karakteristik menyerupai aktinobakteria yaitu Gram positif, bentuk sel batang dan koloni mencekram agar. Keenam isolat tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri yang umum ditemukan pada kelompok Aktinobakteria (Barka *et al.*, 2016). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa Aktinobakteria yang berasosiasi dengan rumput laut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sejumlah bakteri patogen (Ulfah *et al.*, 2018). Selain kelompok

Commented [sa55]: Sifat antagonis karena senyawa antibakteri belum diuji

Commented [sa56]: Gunakan Pustaka primer

Aktinobakteria, aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan rumput laut juga banyak dilaporkan dari jenis bakteri lain seperti *Bacillus* sp (Chakraborty *et al.*, 2017).

Pada hasil penelitian ini ditemukan variasi aktivitas antibakteri dari 22 isolat bakteri yang ditampilkan pada Tabel 3. Adanya variasi aktivitas antibakteri dimungkinkan karena setiap isolat memerlukan kondisi optimum pertumbuhan yang tidak secara mutlak dapat diakomodasi menggunakan media umum seperti LB agar. Meskipun demikian, hasil skrining antibakteri pada setiap isolat seperti yang ditunjukkan oleh isolat SMPR2Y, PCAR1, SMPR6 dan SMPR9 telah memberikan informasi awal tentang spesifisitas setiap isolat terhadap setiap jenis bakteri uji Gram positif ataupun Gram negatif. Upaya verifikasi dengan mengujikan kepada jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya akan menjadi tahapan selanjutnya untuk memberikan perspektif yang lebih akurat terkait spesifisitas jenis senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh setiap isolat.

Hasil penelitian ini secara umum mempertegas potensi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri. Aktivitas antibakteri yang terdeteksi, meskipun tergolong relatif kecil pada sebagian besar isolat, menjadi indikasi awal bahwa isolat-isolat bakteri *E. spinosum* berpotensi mensintesis senyawa antibakteri. Fermentasi, ekstraksi dengan pelarut kimia berbeda dan analisis kandungan ekstrak merupakan tahapan lanjutan untuk mengetahui potensi sintesis senyawa antibakteri dan potensi bioaktivitas lain seperti antivirus, antijamur, antikanker, dan antioksidan.

## KESIMPULAN

Sebanyak 32 isolat bakteri telah diisolasi dari rumput laut *Eucheuma spinosum* menggunakan enam jenis media agar berbeda. Dua puluh dua isolat dari keseluruhan isolat yang diperoleh menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sekurangnya satu bakteri uji Gram positif ataupun Gram negatif berdasarkan metode *perpendicular streak*. Penelitian lanjutan

Commented [sa57]: Bedakan antara bakteri dan aktino

Commented [sa58]: Kalimat kurang dipahami

yang meliputi optimasi pertumbuhan isolat, fermentasi, ekstraksi senyawa aktif dan pengujian ekstrak dari setiap isolat terbaik diperlukan untuk memverifikasi aktivitas antibakteri yang telah diamati.

Commented [sa59]: saran

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas hibah penelitian yang diberikan oleh Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (UPPM) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa no grant: 382/Unwar/FKIK/PD-13/IV/2021.

## DAFTAR PUSTAKA

- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H., Clément, C., Ouhdouch, Y., & Wezel, P. Van. (2016). *Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria*. 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.Address
- Chakraborty, K., Thilakan, B., & Kizhakkekalam, V. K. (2017). Antibacterial aryl-crowned polyketide from *Bacillus subtilis* associated with seaweed *Anthophycus longifolius*. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Chakraborty, K., Thilakan, B., & Raola, V. K. (2017). Phytochemistry Antimicrobial polyketide furanoterpenoids from seaweed-associated heterotrophic bacterium *Bacillus subtilis* MTCC 10403. *Phytochemistry*, 142, 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.06.019>
- Ginting, E. L., Rangian, L., Wantania, L. L., & Wullur, S. (2019). Isolation of Symbiotic Bacteria with Red Algae from Tongkaina Waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 395. <https://doi.org/10.35800/jip.7.2.2019.23728>
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati<sup>2</sup>, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). *Isolasi dan Identifikasi Staphylococcus aureus pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi*. 2(2), 76–82. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Henson, M. W., Pitre, D. M., Weckhorst, J. L., Lanclos, V. C., Webber, A. T., & Thrash, J. C. (2016). *Artificial Seawater Media Facilitate Cultivating Members of the Microbial Majority from the Gulf of Mexico*. 1(2), 1–10. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00028-16>.Editor
- Hudha, M. I., Sepdwiyantri, R., & Sari, S. D. (2012). Ekstraksi Karaginan dari Rumpun Laut (*Eucheuma spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2), 17–20.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Buah Mangga (Mangifera Indica L.)*. 1(2), 159–163.
- Indraningrat, A. A. G., Micheller, S., Runderkamp, M., Sauerland, I., Becking, L. E., Smidt, H., & Sipkema, D. (2019). Cultivation of Sponge-Associated Bacteria from Agelas

- sventres and Xestospongia muta Collected from Different Depths. *Marine Drugs*, 17(10).  
<https://doi.org/10.3390/md17100578>
- Indraningrat, A. A. G., Wijaya, M. D., Suryanditha, P. A., Siskayani, A. S., & Janurianti, N. M. D. (2021). *Antibacterial Screening of Bacterial Isolates Associated with Mangrove Soil from the Ngurah Rai Mangrove Forest Bali*. 10(2), 129–133.  
<https://doi.org/10.14421/biomedich.2021.102.129-133>
- Karthick, P., & Mohanraju, R. (2018). *Antimicrobial Potential of Epiphytic Bacteria Associated With Seaweeds of Little Andaman , India Isolation of Marine Bacteria*. 9(611), 1–11.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00611>
- Lagier, J., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., & Raoult, D. (2015). *Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology*. 28(1), 208–236. <https://doi.org/10.1128/CMR.00110-14>
- Nandina, R. Q., & Pujiyanto, S. (2019). *Skrining Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Molekuler Berdasarkan Gen 16S rRNA Isolat Aktinomiset Asal Pulau Enggano dan Bali*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2).
- Reguera, G. (2016). The Great Plate Count Anomaly. In *In the Company of Microbe* (pp. 288–291).
- Sari, L. P. (2019). *Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dengan Menggunakan Umbi Jalar Cilembu (Ipomoea batatas (L.) Lam) untuk Bakteri Lactobacillus acidophilus, Salmonella typhii dan Escherichia coli*.
- Selvarajan, R., Sibanda, T., & Venkatas, S. (2019). *Distribution , Interaction and Functional Profiles of Epiphytic Bacterial Communities from the Rocky Intertidal Seaweeds , South*. 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56269-2>
- Singh, R. P., Kumari, P., & Reddy, C. R. K. (2015). Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(4), 1571–1586. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6334-y>
- Supriyantini, E., Santosa, G. W., & Alamanda, L. N. (2018). Pertumbuhan Rumput Laut Gracilaria sp. pada Media yang Mengandung Tembaga (Cu) dengan Konsentrasi yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 7(1), 15.  
<https://doi.org/10.14710/buloma.v7i1.19038>
- Taylor, P., Persson, F., Svensson, R., Nylund, G. M., Fredriksson, N. J., & Hermansson, M. (2011). *Biofouling : The Journal of Bioadhesion and Biofilm Ecological role of a seaweed secondary metabolite for a colonizing bacterial community*. 27(6), 37–41.  
<https://doi.org/10.1080/08927014.2011.589001>
- Ulfah, M., Kasanah, N., & Handayani, N. S. N. (2018). Bioactivity and genetic screening of marine actinobacteria associated with red algae Gelidiella acerosa. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 22(1), 13. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.25920>
- Velho-Pereira, S., & Kamat, N. M. (2011). *Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method*.





**HASIL PENELAAHAN NASKAH**

Judul Artikel:

**Skrining Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut *Eucheuma spinosum***

Commented [sa60]: Skrining bakteri atau skrining aktivitas?

Commented [sa61]: Bakteri sebagai antibakteri apa?

**A. Mohon naskah diperiksa dengan mengacu pada kriteria berikut:**

No.	Cek butir-butir telaah	Saran Penelaah *
1	Apakah sistematika dan format penulisan telah sesuai dengan pedoman?	Perlu diperbaiki
2	Apakah telah menggunakan bahasa yang baik dan benar?	Beberapa kata diganti dengan kata yang sesuai dengan keilmuan
3	Apakah judul naskah cukup ringkas dan dapat melukiskan isi naskah dengan jelas?	Judul kurang jelas
4	Apakah abstrak telah merangkum secara singkat dan jelas tentang	
	▪ Tujuan dan ruang lingkup penelitian?	Perlu diperbaiki
	▪ Metode yang digunakan?	Tidak ada sama sekali
	▪ Ringkasan hasil?	Kurang lengkap
5	Apakah pendahuluan menguraikan dengan jelas tentang:	
	▪ Masalah dan ruang lingkup?	Sudah cukup
	▪ Status ilmiah dewasa ini?	Kurang referensi
	▪ Hipotesis?	Kurang data yang mendasari
6	▪ Cara pendekatan penyelesaian masalah?	Sudah sesuai
	▪ Hasil yang diharapkan?	Sudah sesuai
6	Apakah tata kerja telah ditulis secara jelas sehingga percobaan tersebut dapat diulang?	Sudah sesuai
7	Apakah hasil pembahasan disusun secara rinci: data yang disajikan telah diolah, dituangkan dalam bentuk tabel atau gambar, serta diberi keterangan yang mudah dipahami. Apakah dalam pembahasan terdapat kaitan antara hasil dan konsep dasar atau hipotesis?	Data yang disampaikan kurang valid karena hanya 1 ulangan
8	Apakah simpulan berisi secara singkat dan jelas tentang:	
	▪ Esensi Litbang?	Perlu perbaikan

	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Kesesuaian dan pertentangan dengan hasil Litbang lain?</li></ul>	Tidak ada
	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Penalaran penulis secara logis dan jelas berdasarkan fakta yang diperoleh?</li></ul>	Perlu perbaikan
	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Implikasi hasil Litbang baik teoretis maupun penerapan?</li></ul>	Sudah ada
9	Apakah daftar pustaka telah ditulis secara benar sesuai dengan petunjuk?	Banyak refensi yang digunakan bukan pustaka primer

\*Keterangan: Isi **Ya** atau **Tidak** pada kolom yang sesuai

**B. Rekomendasi dari penelaah :**

- Diterima, tanpa perbaikan
- Diterima, dengan perbaikan terlampir
- Ditolak, dengan alasan terlampir

**C. Apakah setelah diperbaiki naskah perlu dikembalikan kepada penelaah?**

- Ya
- Tidak

*Isi tanda X pada kotak yang sesuai*

Artikel hasil review dan form isian hasil telaah mohon dikirim kembali via email ke :  
[jurnal\\_metamorfosa@unud.ac.id](mailto:jurnal_metamorfosa@unud.ac.id) atau upload di sistem ojs.

..... 2016

Penelaah,

Nama (tanpa tanda tangan)

**JURNAL METAMORFOSA**  
*Journal of Biological Sciences*  
eISSN: 2655-8122  
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Skrining Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut**

*Eucheuma spinosum*

**Antibacterial Screening of Bacteria Associated with Seaweed *Eucheuma spinosum***

**INTISARI**

Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang berinteraksi kuat dengan mikroorganisme khususnya dengan kelompok bakteri. Bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut dapat memproduksi metabolit sekunder untuk mendukung pertumbuhan dan melindungi inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *Eucheuma spinosum* dan menskrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang diperoleh. Hasil isolasi bakteri dari *E. spinosum* diperoleh 32 isolat dengan sebaran 14 isolat dari media umum dan 18 isolat dari media khusus. Pengamatan morfologi dari 32 isolat menunjukkan bahwa tujuh isolat bakteri tergolong Gram positif dan 25 isolat bakteri Gram negatif. Sedangkan 25 isolat menunjukkan katalase positif dan tujuh isolat katalase negatif. Hasil pre-skrining antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* atcc 25923 dan *Streptococcus mutans* fnc 0405) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* atcc 25922 dan *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603) menunjukkan 22 isolat memiliki aktivitas antibakteri. Isolat PCAR1 dan SMPR9 menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Streptococcus mutans* berturut-turut sebesar 9,21 mm dan 7,89 mm. Hasil penelitian ini secara umum memberikan gambaran potensi isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Kata Kunci : rumput laut, *Eucheuma spinosum*, isolasi, antibakteri

**ABSTRACT**

Seaweeds have a strong association with microorganisms, especially with bacterial groups. The role of seaweed-associated bacteria in general is to synthesize secondary metabolites to support growth and to protect their host. This study aimed to isolate bacteria associated with seaweed *Eucheuma spinosum* and to screen their antibacterial activities. Cultivation of bacteria-associated with *E. spinosum* resulted 32 bacterial isolates, which 14 isolates obtained from general media and 18 isolates were cultivated from specific media targeted for Actinobacteria. Morphological observations of 32 isolates showed that seven bacterial isolates were Gram-positive and 25-gram negative bacterial isolates. While 25 isolates showed positive catalases and seven isolates negative catalases. Antibacterial screening based on perpendicular streak method against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* atcc 25923 and *Streptococcus mutans* fnc 0405) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* atcc 25922 and *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603) showed 22 isolates with antibacterial activity. Isolates PCAR1 and SMPR9 showed the highest antibacterial activity against *Streptococcus mutans* namely 9.21 mm and 7.89 mm respectively. Our results overall indicated the potential of bacterial isolates associated with *E. spinosum* as the source of antibacterial compounds.

Keyword : seaweed, *Eucheuma spinosum*, isolation, antibacterial

**PENDAHULUAN**

Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang tumbuh di perairan dangkal dengan

morfologi yang menyerupai batang, akar dan daun yang merupakan kesatuan utuh dari bentuknya (Supriyantini *et al.*, 2018). Rumput laut memiliki lebih dari 782 jenis yang tersebar di seluruh Indonesia dan berdasarkan pigmennya jenis tersebut terdiri dari 196 alga hijau, 134 alga cokelat, 452 alga merah (Ulfah *et al.*, 2018). Dari beragam jenis rumput laut, jenis *Eucheuma* adalah salah satu anggota kelas *Rhodophyceae* yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki kandungan agar dan karagenan yang lebih tinggi dari rumput laut lainnya. Jenis *Eucheuma spinosum* merupakan rumput laut yang banyak dibudidayakan di Bali salah satunya karena kandungan karagenan yang cukup tinggi untuk keperluan industri kosmetik, tekstil dan obat-obatan (Hudha *et al.*, 2012).

Rumput laut *E. spinosum* seperti halnya biota laut pada umumnya berasosiasi dengan mikroorganisme khususnya bakteri. Hal ini karena permukaan rumput menyediakan substrat yang cocok untuk pengendapan mikroorganisme dan juga mengeluarkan berbagai zat organik dan senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai nutrisi

untuk multiplikasi bakteri (Hayati *et al.*, 2019). Sementara itu sebagai timbal balik, bakteri memproduksi senyawa metabolit sekunder untuk mendukung pertumbuhan inangnya. Senyawa metabolit sekunder tersebut akan membantu mempertahankan diri dari organisme melawan penyakit, pertumbuhan atau hormon (Ginting *et al.*, 2019).

Sejauh ini penelitian yang mengkaji isolat bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dan potensi antibakteri yang dimiliki masih terbatas. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mempelajari morfologi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* lokal Bali. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menskrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum*.

**BAHAN DAN METODE**

**Pengambilan Sampel *E. spinosum***

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021 Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Sampel *E. spinosum* diambil dari pantai di Desa Patas

**Commented [sks67]:** organisme pengganggu, melawan...

**Commented [sks62]:** Ini bukan nama jenis tapi baru menyebutkan genus saja, nama petunjuk jenis belum ada

**Commented [sks63]:** Pernyataannya terbalik; E spinosum merupakan salah satu rumput laut paling banyak dibudidayakan di Bali.....

**Commented [sks68]:** apakah penelitian yang sejenis belum ada, kalau ada mohon ditambahkan sebagai acuan

**Commented [sks64]:** merupakan salah satu biota laut yang dalam hidupnya sering berasosiasi dengan mikroorganisme khususnya bakteri

**Commented [sks65]:** rumput laut

**Commented [sks66]:** inokulasi

Singaraja, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali (8.186 LS, 114.813 BT). Sampel diambil secara aseptik menggunakan scalpel steril dan ditampung pada botol Falcon 50 mL steril. Botol berisi sampel disimpan di dalam kotak *styrofoam* untuk selanjutnya ditransportasikan ke Laboratorium Fakultas Pertanian. Sesampainya di laboratorium sampel disimpan pada suhu 4°C sampai isolasi bakteri dikerjakan.

#### Media isolasi bakteri

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis media agar yang menargetkan bakteri secara umum yaitu *Zobell Marine Agar* (ZMA, Himedia), *Nutrient agar* (NA, Himedia), *Plate Count Agar* (PCA, Oxoid). Selain itu digunakan pula tiga media khusus untuk menargetkan aktinobakteria yaitu ISP-1 (5.0 gram/L *peptone*, 3.0 gram/L *yeast extract*, 20 gram/L *bacto agar*), ISP-2 (4.0 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L *malt extract*, 4 gram/L *dextrose*, 20 gram/L *bacto agar*) dan *Starch M protein agar* (SMP, Himedia).

Pembuatan media pertumbuhan bakteri dilakukan dengan cara menimbang media sesuai dengan takaran media yang sudah diinstruksikan pada kemasan atau formulasi yang telah ditentukan. Media agar yaitu: NA, PCA, ISP-1 dan ISP-2 dilarutkan pada *artificial seawater* (33 gram/L) untuk menjaga tekanan osmosis bakteri yang akan diisolasi sehingga menyerupai kondisi air laut. Sementara itu, setiap media yang menargetkan aktinobakteria (ISP-1, ISP-2 dan *starch M-protein*) disuplementasi dengan *nystatin* dan *nalidixic acid* untuk mencegah pertumbuhan bakteri non-aktinobakteria dan jamur. Semua media agar disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media yang telah steril secara aseptik di dalam *laminar air flow* kemudian dituang pada cawan petri steril dan didiamkan pada suhu ruang hingga memadat.

#### Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum*

Sampel rumput laut dicuci bersih dengan *artificial seawater* steril sebanyak tiga kali. Sepuluh gram *E. spinosum* ditimbang dan dipotong kecil-kecil dengan memastikan seluruh

Commented [sks69]: dibawa

Commented [sks70]: sampel di laboratorium di simpan dalam suhu....











bagian *thallus* termasuk bagian interior dan eksterior tercampur secara merata. Sampel dihomogenkan dengan cara ditumbuk dengan lumpang dan pastel serta ditambahkan *artificial seawater* steril sebanyak 25 mL.

Sampel *E. spinosum* diencerkan secara bertingkat pada 9 mL *artificial seawater* steril ( $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ ). Dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  diambil 1 mL untuk diinokulasi menggunakan *cotton swab* steril pada media pertumbuhan yang telah ditentukan. Setiap cawan petri yang berisi media agar dibungkus dengan parafilm agar mencegah kontaminasi dan cawan petri dan diinkubasikan pada suhu 28°C. Pengamatan berkala dilakukan dengan setiap 3 hari selama dua minggu untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri yang muncul pada setiap media agar.

**Identifikasi isolat bakteri**

Koloni bakteri dengan morfologi berbeda yang tumbuh pada media agar mengikuti kriteria *colony morphology code* yang berdasarkan karakteristik yang meliputi bentuk, permukaan,

warna dan elevasi (Indraningrat *et al.*, 2019). Sebagai contoh, koloni isolat dengan kode 12314 akan diterjemahkan sebagai bakteri yang memiliki morfologi bulat, permukaan yang kasar dan kusam, warna buram dan permukaan berbentuk kawah (Gambar 1). Untuk bakteri non aktinobakteria dimurnikan pada media Zobell *marine agar*, sedangkan untuk kandidat aktinobakteria dimurnikan pada ISP-2 agar. Koloni dengan morfologi berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda dan setiap koloni terpilih yang selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram ((Sulistijowati R and Mile L. 2016; Nandina & Pujiyanto, 2019) dan dilakukan uji katalase (Ibrahim *et al.*, 2015).

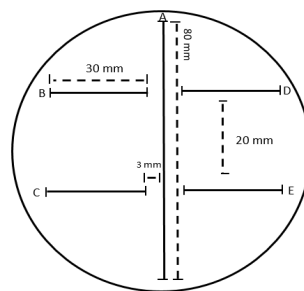
Colony morphology specifications				
Consecutive numbering	FORM	SURFACE	COLOR	ELEVATION
0		no variation		
1		veined	opaque	
2		rough	cloudy	
3		dull	translucent	
4		wrinkled	iridescent	
5		wet		
6				
CMC	1	2 3	1	4

Gambar 3. Skema pemilihan morfologi bakteri berdasarkan metode *colony morphology code* (Indraningrat *et al.*, 2019).

**Skrining Aktivitas antibakteri**

Bakteri dengan morfologi yang berbeda diskriming kemampuan antibakterinya dengan metode *perpendicular streak method* terhadap bakteri uji pada media LB agar (10 gram/L *peptone*, 5 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L NaCl, 20 gram/L *bacto agar*) (Indraningrat *et al.*, 2021). Secara singkat, pada sisi bagian bawah cawan petrik dibuat garis tegak lurus dan melintang dengan menggunakan marker. Pada garis tegak lurus, dilakukan *streak* isolat bakteri yang diuji pada media LB agar. Isolat bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C selama 2x 24 jam hingga koloni terbentuk jelas pada agar. Isolat bakteri diujikan terhadap empat bakteri uji yaitu bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* atcc 25923, *Streptococcus mutans* fnc 0405, dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* atcc 25922 dan *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603. Keempat bakteri uji ini di *streak* secara horizontal dengan memberikan jarak 3 mm dari koloni isolat bakteri yang ingin diuji (Gambar 2). *Agar plate* diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk (dalam mm) dihitung berdasarkan jarak pertumbuhan

bakteri oleh isolat bakteri terhadap masing-masing indikator. Sebagai interpretasi semakin jauh jarak tumbuh bakteri indikator dari isolat bakteri indikator dari isolat bakteri yang diuji mengidentifikasi daya yang lebih kuat.



Gambar 4. Skema *Perpendicular Streak Method* (Indraningrat *et al.*, 2021). A. isolat bakteri uji, B. *Staphylococcus aureus* atcc 25923, C. *Streptococcus mutans* fnc 0405, D. *Escherichia coli* atcc 25922, E. *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603



## HASIL

## Karakteristik morfologi isolat bakteri

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dengan metode *colony morphology code*, pewarnaan Gram dan uji katalase didapatkan total 32 isolat bakteri dengan rincian 14 isolat dari media umum dan 18 isolat dari media khusus (Tabel 2)

Tabel 2. Morfologi isolat bakteri menurut CMC, Pewarnaan Gram dan Katalase

Kode isolat	A. Morfologi Isolat Bakteri dari <i>E. spinosum</i> Pada Media Umum				Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Katalase
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi			
ZR1	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplobasil	+
ZR2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
ZR3	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Basil	+
ZR4	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	-
ZR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Kokus	+
ZR6	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Basil	+
NAR1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
NAR2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	+
NAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Diplobasil	-
NAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplobasil	+
PCAR1	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus	+
PCAR2	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	+
PCAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
PCAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+

Keterangan: ZR: Media Zobell marine agar, NAR: Media Nutrient agar, PCAR: Media Plate count agar, + : Positif, - : Negatif.

B. Morfologi Isolat Bakteri dari Rumput Laut Pada Media Khusus							
Kode Isolat	Morfologi isolat				Pewarnaan		
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi	Gram	Bentuk Sel	Katalase
SMPR1	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	-
SMPR2X	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	+	Basil	+
SMPR2Y	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	4 Berwarna (Kuning)	4 (Berkawah)	+	Diplokokus	+
SMPR3	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Diplokokus	+
SMPR4	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Diplokokus	+
SMPR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	-	Kokus	+
SMPR6	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	+	Basil	+
SMPR7	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Diplokokus	-
SMPR8	1 (Bulat)	3 (Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	1 (Datar)	-	Basil	+
SMPR9	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	3 (Membukit)	-	Kokus Berantai	+
SMPR10	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	+	Kokus	+
ISP1R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	-	Kokus	-
ISP1R-2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+
ISP1R-3	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus Berantai	-
ISP1R-4	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	+	Kokus	+
ISP2R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	-	Kokus	+
ISP2R-2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Kokus	-
ISP2R-3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	-	Basil	+

Keterangan: SMPR: Media *Starch* m protein, ISP1R (*peptone, yeast extract, bacto agar*): Media ISP-1, ISP2R: Media ISP-2 (*yeast extract, malt extract, dextrose, bacto agar*), + : Positif, - : Negatif.

Hasil pewarnaan Gram pada [Tabel] dari isolat rumput laut *E. spinosum*, tujuh isolat (22 persen) merupakan Gram positif dan 25 isolat (78 persen) dan berdasarkan uji katalase pada 25 isolat (78 persen) memiliki katalase positif dan tujuh isolat (22 persen) tidak memiliki aktivitas enzim katalase (negatif).

**Evaluasi aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum***

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan teknik *perpendicular streak* menggunakan empat bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Zona Hambat Isolat dari *E. Spinosum*  
A. Zona Hambat Isolat *E. spinosum* dari Media Umum Terhadap Bakteri Uji

No	Kode Sampel	Zona Daya Hambat (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneu</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
1	ZR1	-	2,44	1,91	2,83
2	ZR2	2,39	2,08	1,12	1,55
3	ZR3	0,34	2,50	-	-
4	ZR4	1,34	0,85	2,11	-
5	ZR5	1,76	2,34	1,83	0,97
6	PCAR1	-	-	-	9,21
7	PCAR3	1,81	1,29	2,03	-

Keterangan: *E. coli* : *Escherichia coli* atcc 25922, *K. pneu* : *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus* atcc 25923, dan *S. mutans* : *Streptococcus mutans* fnc 0405.

B. Zona Hambat Isolat *E. spinosum* dari Media Khusus Terhadap Bakteri Uji

No	Kode Sampel	Zona Daya Hambat (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneu</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
1	SMPR 1	1,98	3,04	-	-
2	SMPR 2x	-	2,56	2,01	1,37
3	SMPR 2y	3,69	3,93	-	-
4	SMPR 4	1,61	1,27	0,47	-
5	SMPR 6	1,15	0,77	0,71	6,67
6	SMPR 7	-	0,52	-	0,95
7	SMPR 9	1,52	1,61	2,47	7,89
8	SMPR 10	-	1,65	1,26	2,30
9	ISP1R-1	1,23	-	-	1,28
10	ISP1R-2	-	-	-	0,81
11	ISP1R-3	1,64	1,52	-	-
12	ISP1R-4	1,57	1,28	1,53	2,03
13	ISP2R-1	1,46	-	-	-
14	ISP2R-2	2,58	1,16	2,3	1,55
15	ISP2R-3	-	0,76	0,95	0,94

Keterangan: *E. coli* : *Escherichia coli* atcc 25922, *K. pneu* : *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus* atcc 25923, dan *S. mutans* : *Streptococcus mutans* fnc 0405.

Pada Tabel 3 menunjukkan isolat yang mampu menghambat bakteri uji *E. coli* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,69 mm diikuti dengan isolat ISP2R-2 dan ZR2 dengan zona hambat berturut-turut sebesar 2,58 mm dan 2,39 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *E. coli* adalah isolat dengan kode ZR3 sebesar 0,34 mm.

Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *K. pneumoniae* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,93

Commented [sks71]: Table berapa  
Commented [sks72]: Mohon diisi nama table yang baru jangan dijadikan satu dengan table diatasnya (Tabel 3) karena topiknya beda

mm diikuti dengan isolat SMPR1 dan SMPR2X dengan zona hambat berturut-turut sebesar 3,04 mm dan 2,56 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *K. pneumoniae* adalah isolat dengan kode SMPR7 sebesar 0,52 mm.

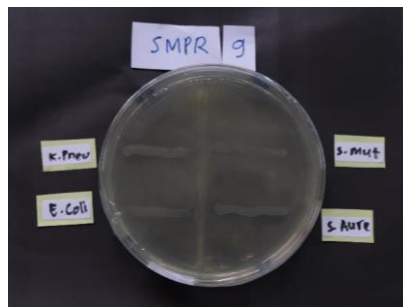
Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. aureus* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR9 dengan zona hambat sebesar 2,47 mm diikuti dengan isolat ISPR2-2 dan isolat ZR4 dengan zona hambat berturut-turut 2,30 mm dan 2,11 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. aureus*

adalah isolat dengan kode SMPR4 sebesar 0,47 mm.

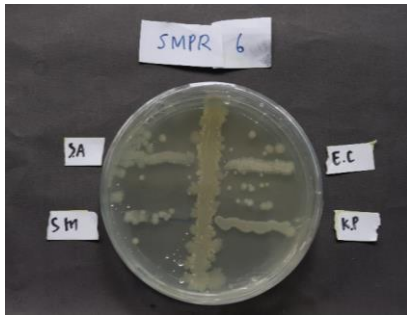
Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. mutans* tertinggi adalah isolat dengan kode PCAR1 dengan zona hambat sebesar 9,21 mm diikuti dengan isolat SMPR9 dan SMPR6 dengan zona hambat berturut-turut 7,89 mm dan 6,67 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. mutans* adalah isolat ISPIR-2 sebesar 0,81 mm. Zona daya hambat isolat kode PCAR1, SMPR9, SMPR6 dan SMPR2Y dapat dilihat pada Gambar 3.



A



B



C



D

Gambar 3. Daya hambat isolat rumput laut terhadap bakteri uji. A. Isolat PCAR1 memiliki zona daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 9,21 mm, B. Isolat SMPR9 memiliki zona daya hambat terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 7,89 mm dan C. Isolat SMPR6 memiliki zona daya hambat terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* sebesar 6,67 mm, D. Isolat SMPR2Y memiliki zona daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Escherichia coli* sebesar 3,69 mm dan zona hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* sebesar 3,93 mm.

Commented [sks73]: Usahakan gambar atau table terletak pada 1 halaman

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sebanyak 32 isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* telah diisolasi dengan menggunakan enam jenis media pertumbuhan berbeda. Tujuan penggunaan media tumbuh yang bervariasi adalah untuk mendapatkan sebanyak mungkin koloni bakteri yang bisa diisolasi. Secara umum, kandungan media menentukan jenis bakteri yang bisa ditumbuhkan pada media agar (Sari, 2019). Dalam penelitian ini media agar yang komposisinya tidak mengandung garam laut dilarutkan dengan *artificial seawater* (ASW) yang bertujuan untuk menjaga tekanan osmosis sehingga menyerupai kondisi air laut (Henson *et al.*, 2016). Diharapkan dengan kondisi tekanan osmosis yang sama maka bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dapat tumbuh pada media sintetik.

Koloni yang tumbuh pada media agar cukup bervariasi dan dengan sejumlah koloni memiliki kenampakan visual yang sama. Maka dari itu pemilihan koloni bakteri didasarkan pada metode *colony morphology code* yaitu suatu cara

pengelompokkan koloni berdasarkan kenampakan morfologinya. Koloni dengan kode CMC yang berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Tiga puluh dua isolat bakteri yang diisolasi mencirikan individu yang unik dan maka dari itu diduga mewakili jenis bakteri yang berbeda. Meskipun jumlah koloni yang didapat cukup bervariasi, sangat disadari bahwa tidak mungkin untuk mengisolasi seluruh bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum*. Hal ini karena secara natural tidak semua bakteri mampu tumbuh pada kondisi laboratorium khususnya pada media sintetik akibat tidak adanya interaksi dengan bakteri lain ataupun ketiadaan molekul pertumbuhan yang disintesis oleh inangnya yang dikenal sebagai *plate count anomaly* (Reguera, 2016). Hal ini dibuktikan dari hasil penelitian dengan pendekatan *culture-independent approach* yang melaporkan 24 filum bakteri berasosiasi pada rumput laut (Selvarajan *et al.*, 2019). Sedangkan hanya sekitar 0.5% dari jumlah tersebut yang dapat tumbuh pada media agar yang menunjukkan kesenjangan hasil antara pendekatan *culture*

*dependent* dan *culture independent approaches* (Lagier *et al.*, 2015). Seluruh isolat yang diperoleh pada penelitian ini hanya dikarakterisasi secara morfologi tanpa identifikasi secara molekuler sehingga tidak diketahui pengelompokan dari setiap isolat pada tingkatan filum. Amplifikasi dan sekuensing fragmen gen 16S rRNA gen merupakan tahapan lanjutan untuk memastikan identitas jenis dari isolat bakteri yang diperoleh khususnya isolat dengan aktivitas antibakteri.

Skrining antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum* menjadi tujuan khusus dari penelitian ini untuk mendapatkan isolat potensial yang dapat memproduksi senyawa antibakteri. Metode *perpendicular streak* dipilih karena relatif mudah dikerjakan dan dapat secara efektif menyeleksi aktivitas antibakteri dari suatu isolat tanpa perlu melakukan tahapan ekstraksi (Velho-Pereira & Kamat, 2011). Isolat bakteri yang mampu mensintesis senyawa antibakteri akan mendifusikan molekul aktifnya melalui media agar sehingga bakteri uji tidak akan mampu

mendekati koloni dari isolat bakteri. Semakin jauh jarak bakteri uji dari isolat mengindikasikan aktivitas antibakteri yang kuat dari isolat (Chakraborty *et al.*, 2017).

Potensi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut sebagai sumber senyawa antibakteri telah menjadi fokus studi dalam satu dekade terakhir (Karthick & Mohanraju, 2018; Singh *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2011). Secara mikroskopis enam bakteri yang diisolasi dari media khusus yaitu isolat SMPR2X, SMPR2Y, SMPR6, SMPR10, ISP1R-3, ISP1R-4 memiliki karakteristik menyerupai aktinobakteria yaitu Gram positif, bentuk sel batang dan koloni mencekram agar. Keenam isolat tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri yang umum ditemukan pada kelompok Aktinobakteria (Barka *et al.*, 2016). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa Aktinobakteria yang berasosiasi dengan rumput laut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sejumlah bakteri patogen (Ulfah *et al.*, 2018). Selain kelompok Aktinobakteria, aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan rumput laut juga banyak

dilaporkan dari jenis bakteri lain seperti *Bacillus* sp (Chakraborty *et al.*, 2017).

Pada hasil penelitian ini ditemukan variasi aktivitas antibakteri dari 22 isolat bakteri yang ditampilkan pada Tabel 3. Adanya variasi aktivitas antibakteri dimungkinkan karena setiap isolat memerlukan kondisi optimum pertumbuhan yang tidak secara mutlak dapat diakomodasi menggunakan media umum seperti LB agar. Meskipun demikian, hasil skrining antibakteri pada setiap isolat seperti yang ditunjukkan oleh isolat SMPR2Y, PCAR1, SMPR6 dan SMPR9 telah memberikan informasi awal tentang spesifisitas setiap isolat terhadap setiap jenis bakteri uji Gram positif ataupun Gram negatif. Upaya verifikasi dengan mengujikan kepada jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya akan menjadi tahapan selanjutnya untuk memberikan perspektif yang lebih akurat terkait spesifisitas jenis senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh setiap isolat.

Hasil penelitian ini secara umum mempertegas potensi bakteri yang berasosiasi

dengan rumput laut *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri. Aktivitas antibakteri yang terdeteksi, meskipun tergolong relatif kecil pada sebagian besar isolat, menjadi indikasi awal bahwa isolat-isolat bakteri *E. spinosum* berpotensi mensintesis senyawa antibakteri. Fermentasi, ekstraksi dengan pelarut kimia berbeda dan analisis kandungan ekstrak merupakan tahapan lanjutan untuk mengetahui potensi sintesis senyawa antibakteri dan potensi bioaktivitas lain seperti antivirus, antijamur, antikanker, dan antioksidan.

#### KESIMPULAN

Sebanyak 32 isolat bakteri telah diisolasi dari rumput laut *Eucheuma spinosum* menggunakan enam jenis media agar berbeda. Dua puluh dua isolat dari keseluruhan isolat yang diperoleh menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sekurangnya satu bakteri uji Gram positif ataupun Gram negatif berdasarkan metode *perpendicular streak*. Penelitian lanjutan yang meliputi optimasi pertumbuhan isolat, fermentasi, ekstraksi senyawa aktif dan pengujian ekstrak dari setiap isolat terbaik

**Commented [sks74]:** Pernyataan ini lebih baik dimasukkan dalam saran bukan kesimpulan



diperlukan untuk memverifikasi aktivitas antibakteri yang telah diamati.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas hibah penelitian yang diberikan oleh Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (UPPM) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa no grant: 382/Unwar/FKIK/PD-13/IV/2021.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveauvaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H., Clément, C., Ouhdouch, Y., & Wezel, P. Van. (2016). *Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria*. 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.Address
- Chakraborty, K., Thilakan, B., & Kizhakkekalam, V. K. (2017). Antibacterial aryl-crowned polyketide from *Bacillus subtilis* associated with seaweed *Anthophycus longifolius*. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Chakraborty, K., Thilakan, B., & Raola, V. K. (2017). Phytochemistry Antimicrobial polyketide furanoterpenoids from seaweed-associated heterotrophic bacterium *Bacillus subtilis* MTCC 10403. *Phytochemistry*, 142, 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.06.019>
- Ginting, E. L., Rangan, L., Wantania, L. L., & Wullur, S. (2019). Isolation of Symbiotic Bacteria with Red Algae from Tongkaina Waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 395. <https://doi.org/10.35800/jip.7.2.2019.23728>
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). *Isolasi dan Identifikasi Staphylococcus aureus pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi*. 2(2), 76–82. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Henson, M. W., Pitre, D. M., Weckhorst, J. L., Lanclos, V. C., Webber, A. T., & Thrash, J. C. (2016). *Artificial Seawater Media Facilitate Cultivating Members of the Microbial Majority from the Gulf of Mexico*. 1(2), 1–10. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00028-16>.Editor
- Hudha, M. I., Sepdwiyantri, R., & Sari, S. D. (2012). Ekstraksi Karaginan dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2), 17–20.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Buah Mangga (Mangifera Indica L.)*. 1(2), 159–163.
- Indraningrat, A. A. G., Micheller, S., Runderkamp, M., Sauerland, I., Becking, L. E., Smidt, H., & Sipkema, D. (2019). Cultivation of Sponge-Associated Bacteria from *Agelas sventres* and *Xestospongia muta* Collected from Different Depths. *Marine Drugs*, 17(10). <https://doi.org/10.3390/md17100578>
- Indraningrat, A. A. G., Wijaya, M. D., Suryanditha, P. A., Siskayani, A. S., & Janurianti, N. M. D. (2021). *Antibacterial Screening of Bacterial Isolates Associated with Mangrove Soil from the Ngurah Rai Mangrove Forest Bali*. 10(2), 129–133. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2021.102.129-133>
- Karthick, P., & Mohanraju, R. (2018).

- Antimicrobial Potential of Epiphytic Bacteria Associated With Seaweeds of Little Andaman , India Isolation of Marine Bacteria.* 9(611), 1–11.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00611>
- Lagier, J., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., & Raoult, D. (2015). *Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology.* 28(1), 208–236.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00110-14>
- Nandina, R. Q., & Pujjianto, S. (2019). Skrining Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Molekuler Berdasarkan Gen 16S rRNA Isolat Aktinomiset Asal Pulau Enggano dan Bali. *Berkala Bioteknologi*, 2(2).
- Reguera, G. (2016). The Great Plate Count Anomaly. In *In the Company of Microbe* (pp. 288–291).
- Sari, L. P. (2019). *Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dengan Menggunakan Umbi Jalar Cilembu (Ipomoea batatas (L.) Lam) untuk Bakteri Lactobacillus acidophilus, Salmonella typhi dan Escherichia coli.*
- Selvarajan, R., Sibanda, T., & Venkatas, S. (2019). *Distribution , Interaction and Functional Profiles of Epiphytic Bacterial Communities from the Rocky Intertidal Seaweeds , South.* 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-56269-2>
- Singh, R. P., Kumari, P., & Reddy, C. R. K. (2015). Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(4), 1571–1586.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-014-6334-y>
- Supriyantini, E., Santosa, G. W., & Alamanda, L. N. (2018). Pertumbuhan Rumput Laut Gracilaria sp. pada Media yang Mengandung Tembaga (Cu) dengan Konsentrasi yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 7(1), 15.  
<https://doi.org/10.14710/buloma.v7i1.19038>
- Taylor, P., Persson, F., Svensson, R., Nylund, G. M., Fredriksson, N. J., & Hermansson, M. (2011). *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Ecological role of a seaweed secondary metabolite for a colonizing bacterial community.* 27(6), 37–41.  
<https://doi.org/10.1080/08927014.2011.589001>
- Ulfah, M., Kasanah, N., & Handayani, N. S. N. (2018). Bioactivity and genetic screening of marine actinobacteria associated with red algae Gelidiella acerosa. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 22(1), 13.  
<https://doi.org/10.22146/ijbiotech.25920>
- Velho-Pereira, S., & Kamat, N. M. (2011). *Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method.*

ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfofa/authorDashboard/submission/98022

Metamorfofa: Journal of Biological Sciences

### permintaan revisis

**Participants**

Editor in Chief (metamorfofaadmin)  
 sun Susun Susun Prawanayoni, susunbio (prawanayoni)  
 Anak Agung Gede Indraningrat (indra\_ningrat)

**Messages**

Note	From
Silahkan melakukan revisi sesuai permintaan reviewer. Perhatikan format penulisan, c stile penulisan daftar pustaka, tahun dan jumlah artikel (minimal 15 artikel), HASIL indek similaritas tdk melebihi 20 %	metamorfofaadmin Mar 05
Dear Editor, Kami mengucapkan terima kasih untuk feedback yang diberikan pada manuscript yang telah kami. Kami sudah merevisi artikel sesuai masukan dari reviewer dan editor meliputi judul artikel, tampilan data, pembahasan, kesimpulan dan pustaka sudah diperbaharui sesuai komentar reviewer.  Salam, Sucitra et al	indra_ningrat Mar 12

ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfofa/authorDashboard/submission/98022

Metamorfofa: Journal of Biological Sciences

English View Site Indra\_ningrat

- 338222-1 Journal editor, Skrining Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut Eucheuma spinosum.docx Article Text
- 339816-1 Author, SE Indraningrat\_revisi.docx Article Text
- 339822-1 Journal manager, Isolasi Bakteri Dari Rumput Laut Eucheuma spinosum dan Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap Beberapa Bakteri Gram Post.docx Article Text
- 339823-1 Journal manager, Isolasi Bakteri Dari Rumput Laut Eucheuma spinosum dan Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap Beberapa Bakteri Gram Post.docx Article Text

**Review Discussions** [Add discussion](#)

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
<a href="#">permintaan revisis</a>	metamorfofaadmin Mar/05	indra_ningrat Mar/12	1	<input type="checkbox"/>

Isolasi Bakteri Dari Rumput Laut *Eucheuma spinosum* dan Skrining Aktivitas Antibakteri  
Terhadap Beberapa Bakteri Gram Positif dan Negatif

*Bacteria associated with seaweeds Eucheuma spinosum and antibacterial screening against several  
Gram positive and negative Bacteria*

INTISARI

Bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut memproduksi beragam senyawa aktif salah satunya yang bersifat antibakteri untuk melindungi inangnya dari infeksi bakteri patogen *Eucheuma spinosum* adalah jenis rumput laut yang umum ditemukan di perairan Indonesia, namun potensi antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan rumput laut ini masih belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menskrining antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* Bakteri dari *E. spinosum* diisolasi dengan metode cawan sebar menggunakan media Zobell Marine Agar (ZMA), Nutrient Agar (NA), Plate Count Agar (PCA), ISP-1, ISP-2 dan Starch M protein agar (SMP). Morfologi isolat bakteri dikelompokkan berdasarkan *colony morphology code*, pewarnaan Gram dan uji katalase. Aktivitas antibakteri isolat diuji menggunakan metode *perpendicular streak* terhadap *Staphylococcus aureus* atcc 25923, *Streptococcus mutans* fnc 0405, *Escherichia coli* atcc 25922, *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603. Hasil isolasi bakteri memperoleh 32 isolat dengan sebaran 14 isolat dari media umum (ZMA, NA, dan PCA) dan 18 isolat dari media khusus (ISP-1, ISP-2 dan SMP). Pengamatan terhadap 32 isolat menunjukkan tujuh isolat tergolong Gram positif, 25 Gram negatif, 25 katalase positif dan tujuh katalase negatif. Hasil skrining antibakteri menunjukkan 22 isolat mampu menghambat sekurangnya satu bakteri uji. Isolat PCAR1 dan SMPR9 adalah dua isolat dengan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *S. mutans* sebesar berturut-turut 9,21 mm dan 7,89 mm. Diameter zona hambat yang terbentuk pada isolat PCAR1 dan SMPR9 terhadap bakteri uji lain berkisar < 2.5 mm. Hasil penelitian ini secara umum memberikan gambaran potensi isolat bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Kata Kunci: rumput laut, *Eucheuma spinosum*, isolasi, antibakteri

ABSTRACT

Bacteria associated with seaweed produce a variety of active compounds including antibacterial substance which beneficial to protect host against pathogenic bacteria. *Eucheuma spinosum* is a type of seaweed commonly found in Indonesia, however, antibacterial activity of bacteria associated with this seaweed is largely unknown. This study aims to isolate and to screen for antibacterial activity from isolates associated with *E. spinosum* seaweed. Bacterial isolates were cultivated by spread method on Zobell Marine Agar (ZMA), Nutrient Agar (NA), Plate Count Agar (PCA), ISP-1, ISP-2 and Starch M protein agar (SCA) media. The morphological characteristics were analyzed based on colony morphology code, Gram staining and catalase test. Antibacterial activity was screened using *perpendicular streak* against *Staphylococcus aureus* atcc 25923, *Streptococcus mutans* fnc 0405, *Escherichia coli* atcc 25922,

*Klebsiella pneumoniae* atcc 700603. Thirty-two bacterial isolates were obtained in which 14 isolates generated from general media (ZMA, NA, and PCA) and 18 isolates from specific media (ISP-1, ISP-2 and SMP). Of these 32 isolates, seven isolates classified as Gram positive, 25 Gram negative, 25 catalase positive and seven catalases negative. Twenty-two isolates showed antibacterial activity against at least one test bacteria. Isolates PCAR1 and SMPR9 were the two isolates with the highest antibacterial activity against *S. mutans* at 9.21 mm and 7.89 mm, respectively. While, the diameter zone of inhibition of these isolates against other test bacteria were in the range of < 2.5 mm. The study provides an overview of potential of bacterial isolates associated with *E. spinosum* as a producer of antibacterial compounds.

**Keyword:** seaweed, *Eucheuma spinosum*, isolation, antibacterial

## PENDAHULUAN

Rumput laut merupakan makroalga benthic yang hidup melekat pada dasar perairan serta struktur tubuhnya tidak dapat dibedakan antara akar batang dan daun sehingga tergolong sebagai *thallophyta* (Supriyantini *et al.*, 2018). Rumput laut memiliki lebih dari 782 jenis yang tersebar di seluruh Indonesia dan berdasarkan pigmennya jenis tersebut terdiri dari 196 alga hijau, 134 alga coklat, 452 alga merah (Anggadiredja *et al.*, 2009). Dari beragam jenis rumput laut, rumput laut dari genus *Eucheuma* adalah salah satu anggota kelas *Rhodophyceae* yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki kandungan agar dan karagenan yang tinggi berkisar antara 62-68% dari berat keringnya dibandingkan jenis rumput laut lainnya (Aslan, 1998). *Eucheuma spinosum* merupakan salah satu jenis rumput laut yang

banyak dibudidayakan di Bali untuk keperluan industri kosmetik, tekstil dan obat-obatan (Hudha *et al.*, 2012).

Rumput laut *E. spinosum* adalah satu biota laut yang berasosiasi dengan mikroorganisme khususnya bakteri (Hollants *et al.*, 2013). Hal ini karena permukaan rumput laut menyediakan substrat yang cocok bagi habitat bakteri dan menyediakan oksigen serta carbon organik yang berfungsi sebagai nutrisi untuk multiplikasi bakteri (Bolinches, 1988). Sementara itu sebagai timbal balik, bakteri memproduksi senyawa metabolit primer seperti vitamin, enzim, nitrogen terikat ataupun berupa metabolit sekunder seperti antibiotik untuk mendukung pertumbuhan inangnya (Hollants *et al.*, 2013). Senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk membantu inangnya dalam mempertahankan diri dari patogen ataupun

bakteri kompetitor yang dapat menyebabkan penyakit (Sieburth, 1968; Ginting *et al.*, 2019).

Sejauh ini penelitian yang mengkaji isolat bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dan potensi antibakteri yang dimiliki masih terbatas (Rahmayanti *et al.*, 2019). Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mempelajari morfologi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* lokal Bali. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menskrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum*. Skrining antibakteri dari isolat *E. spinosum* difokuskan pada empat jenis bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan jenis bakteri yang umum dilaporkan menjadi agen infeksius pada manusia maupun hewan (Krzyściak *et al.*, 2014., Lozano *et al.*, 2016., Ramos *et al.*, 2021., De Koster *et al.*, 2022.,). Sehingga, isolat yang mampu menghambat salah satu dari bakteri uji ini dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat penghasil senyawa antibakteri.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel *E. spinosum*

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021 Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Sampel *E. spinosum* diambil dari pantai di Desa Patas Singaraja, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali (8.186 LS, 114.813 BT). Sampel diambil secara aseptik menggunakan scalpel steril dan ditampung pada botol Falcon 50 mL steril. Botol berisi sampel disimpan di dalam kotak *styrofoam* untuk selanjutnya dibawa ke Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Sampel disimpan pada suhu 4°C sebelum tahapan isolasi bakteri dikerjakan.

### Media isolasi bakteri

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis media agar yang menargetkan bakteri secara umum yaitu *Zobell Marine Agar* (ZMA, Himedia), *Nutrient agar* (NA, Himedia), *Plate Count Agar* (PCA, Oxoid). Selain itu digunakan pula tiga media khusus untuk menargetkan aktinobakteria yaitu ISP-1 (5.0 gram/L *peptone*, 3.0 gram/L *yeast extract*, 20 gram/L *bacto agar*),

ISP-2 (4.0 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L *malt extract*, 4 gram/L *dextrose*, 20 gram/L *bacto agar*) dan *Starch M* protein agar (SMP, Himedia).

Pembuatan media pertumbuhan bakteri ditimbang formulasi yang sudah ditentukan. Empat media agar yang tidak mengandung komponen garam yaitu NA, PCA, ISP-1 dan ISP-2 dilarutkan pada larutan *artificial seawater* (33 gram/L) untuk menjaga tekanan osmosis bakteri yang akan diisolasi sehingga menyerupai kondisi air laut (Henson *et al.*, 2016). Sementara itu, setiap media yang menargetkan aktinobakteria (ISP-1, ISP-2 dan *starch M*-protein) disuplementasi dengan *nystatin* dan *nalidixic acid* untuk mencegah pertumbuhan bakteri non-aktinobakteria dan jamur. Semua media agar disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

#### **Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum***

Sampel rumput laut dicuci bersih dengan *artificial seawater* steril sebanyak tiga kali. Sepuluh gram *E. spinosum* ditimbang dan dipotong kecil-kecil dengan memastikan seluruh

bagian *thallus* termasuk bagian interior dan eksterior tercampur secara merata. Sampel dihomogenkan dengan cara ditumbuk dengan lumpang dan pastel serta ditambahkan *artificial seawater* steril sebanyak 25 mL.

Sampel *E. spinosum* diencerkan secara bertingkat pada 9 mL *artificial seawater* steril ( $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ ). Dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  diambil 1 mL untuk diinokulasi menggunakan *cotton swab* steril pada media pertumbuhan yang telah ditentukan. Setiap cawan petri diinkubasikan pada suhu 28°C. Pengamatan berkala dilakukan dengan setiap 3 hari selama dua minggu untuk mengamati koloni bakteri yang muncul pada setiap media agar.

#### **Identifikasi isolat bakteri**

Koloni bakteri dengan morfologi berbeda yang tumbuh pada media agar mengikuti kriteria *colony morphology code* yang berdasarkan karakteristik yang meliputi bentuk, permukaan, warna dan elevasi (Indraningrat *et al.*, 2019). Sebagai contoh, koloni isolat dengan kode 12314 akan diterjemahkan sebagai bakteri yang memiliki morfologi bulat, permukaan yang kasar dan kusam, warna buram dan permukaan

berbentuk kawah (Gambar 1). Untuk bakteri non aktinobakteria dimurnikan pada media Zobell *marine agar*, sedangkan untuk kandidat aktinobakteria dimurnikan pada ISP-2 agar. Koloni dengan morfologi berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda dan setiap koloni terpilih yang selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram (Beveridge, 2001) dan dilakukan uji katalase (Delvia *et al.*, 2015).

Colony morphology specifications				
Consecutive numbering	FORM	SURFACE	COLOR	ELEVATION
0		no variation		
1		veined	opaque	
2		rough	cloudy	
3		dull	translucent	
4		wrinkled	iridescent	
5		wet		
6				
CMC	1	2 3	1	4

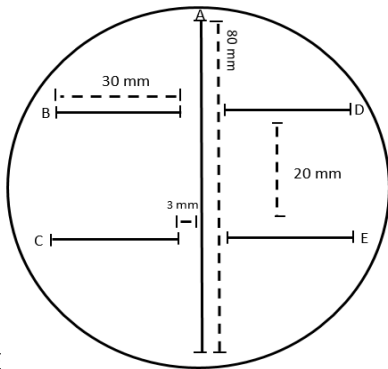
Gambar 5. Skema pemilihan morfologi bakteri berdasarkan metode *colony morphology code* (Indraningrat *et al.*, 2019).

**Skrining Aktivitas antibakteri**

Bakteri dengan morfologi yang berbeda diskriming kemampuan antibakterinya dengan metode *perpendicular streak method* terhadap bakteri uji pada media LB agar (10 gram/L

*peptone*, 5 gram/L *yeast extract*, 10 gram/L NaCl, 20 gram/L *bacto agar*) (Ausubel *et al.*, 1994). Isolat bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C selama 2x 24 jam hingga koloni terbentuk jelas pada agar. Isolat bakteri diujikan terhadap empat bakteri uji yaitu bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* atcc 25923, *Streptococcus mutans* fnc 0405, dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* atcc 25922 dan *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603. Keempat bakteri uji ini di *streak* secara horizontal dengan memberikan jarak 3 mm dari koloni isolat bakteri yang ingin diuji (Gambar 2). *Agar plate* diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk (dalam mm) dihitung berdasarkan jarak pertumbuhan bakteri oleh isolat bakteri terhadap masing-masing indikator. Sebagai interpretasi semakin jauh jarak tumbuh bakteri indikator dari isolat bakteri indikator dari isolat bakteri yang diuji mengidentifikasi daya yang lebih kuat.





C *thod*  
 ((Velho-Pereira and Kamat, 2011; Indraningrat et al., 2021). A. isolat bakteri uji, B. *Staphylococcus aureus* atcc 25923, C. *Streptococcus mutans* fnc 0405, D. *Escherichia coli* atcc 25922, E. *Klebsiella pneumoniae* atcc 700603

**HASIL**

**Isolasi Bakteri dari *E. spinosum***

Sebanyak 32 bakteri telah diisolasi dari *E. spinosum* yang tersebar pada enam media pertumbuhan berbeda. Koloni yang telah diperoleh kemudian diidentifikasi morfologinya berdasarkan *colony morphology code*, pewarnaan Gram dan uji katalase. Sebaran dari 32 isolat bakteri yang diperoleh terbagi menjadi 14 isolat dari media umum (ZMA, NA, dan PCA) (Tabel 2) dan 18 isolat dari media khusus (ISP-1, ISP-2 dan SMP) (Tabel 3).

Secara umum karakteristik dari 32 isolat yang teramati memiliki morfologi yang cukup bervariasi meliputi bentuk bulat dan tidak beraturan, memiliki permukaan kasar dan kusam dan berlendir, berwarna buram, berawan dan berwarna-warni dan memiliki elevasi yang datar, meninggi, membukit dan berkawah. Hasil pewarnaan Gram pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa isolat dapat dikelompokkan menjaditujuh isolat (22 persen) merupakan Gram positif dan 25 isolat (78 persen). Sedangkan berdasarkan uji katalase, 25 isolat (78 persen) memiliki katalase positif dan tujuh isolat (22 persen) tidak memiliki aktivitas enzim katalase (negatif).

Tabel 2. Morfologi isolat bakteri yang diisolasi pada media ZMA, NA dan PCA

Kode isolat	Morfologi isolat				Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Katalase
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi			
ZR1	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Diplobasil	+
ZR2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+
ZR3	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Basil	+
ZR4	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Kokus	-
ZR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Kokus	+
ZR6	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	negatif	Basil	+
NAR1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+
NAR2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Kokus	+
NAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	negatif	Diplobasil	-
NAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Diplobasil	+
PCAR1	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	positif	Kokus	+
PCAR2	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Diplokokus	+
PCAR3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+
PCAR4	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+

Keterangan: ZR: Media *Zobell marine agar*, NAR: Media *Nutrient agar*, PCAR: Media *Plate count agar*

Tabel 3. Morfologi isolat bakteri yang diisolasi pada media ISP-1, ISP-2 dan SMP

Kode Isolat	Morfologi isolat				Pewarnaan		
	Bentuk	Permukaan	Warna	Elevasi	Gram	Bentuk Sel	Katalase
SMPR1	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Diplokokus	-
SMPR2X	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	positif	Basil	+
SMPR2Y	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	4 Berwarna (Kuning)	4 (Berkawah)	positif	Diplokokus	+
SMPR3	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Diplokokus	+
SMPR4	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Diplokokus	+
SMPR5	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	negatif	Kokus	+
SMPR6	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	1 (Datar)	positif	Basil	+
SMPR7	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Diplokokus	-
SMPR8	1 (Bulat)	3 (Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	1 (Datar)	negatif	Basil	+
SMPR9	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	13 (Buram dan Berawan)	3 (Membukit)	negatif	Kokus Berantai	+
SMPR10	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	positif	Kokus	+
ISP1R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	negatif	Kokus	-
ISP1R-2	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+
ISP1R-3	2 (Tidak Beraturan)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	positif	Kokus Berantai	-
ISP1R-4	1 (Bulat)	23 (Kasar dan Kusam)	1 (Buram)	3 (Membukit)	positif	Kokus	+
ISP2R-1	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	4 (Berkawah)	negatif	Kokus	+
ISP2R-2	2 (Tidak Beraturan)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Kokus	-
ISP2R-3	1 (Bulat)	3 (Kusam)	1 (Buram)	2 (Meninggi)	negatif	Basil	+

**Evaluasi aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum***

Skrining antibakteri dengan metode *perpendicular streak* menunjukkan bahwa 22 isolat dari 32 isolat (68.75%) yang aktif menghambat sekurangnya satu bakteri uji. Sedangkan, 10 isolat lainnya tidak membentuk jarak dengan bakteri uji. Sehingga kesepuluh isolat bakteri ini dikategorikan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Isolat bakteri yang membentuk zona hambat terhadap sekurangnya satu bakteri uji terindikasi memiliki aktivitas antibakteri (Tabel 4).

Tabel 4. Zona Hambat Isolat dari *E. spinosum* (mm) terhadap bakteri uji berdasarkan metode *perpendicular streak*.

No	Kode Sampel	<i>E. coli</i>	<i>K. pneu</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
1	ZR1	-	2,44	1,91	2,83
2	ZR2	2,39	2,08	1,12	1,55
3	ZR3	0,34	2,50	-	-
4	ZR4	1,34	0,85	2,11	-
5	ZR5	1,76	2,34	1,83	0,97
6	PCAR1	-	-	-	9,21
7	PCAR3	1,81	1,29	2,03	-
8	SMPR 1	1,98	3,04	-	-
9	SMPR 2x	-	2,56	2,01	1,37
10	SMPR 2y	3,69	3,93	-	-
11	SMPR 4	1,61	1,27	0,47	-
12	SMPR 6	1,15	0,77	0,71	6,67
13	SMPR 7	-	0,52	-	0,95

14	SMPR 9	1,52	1,61	2,47	7,89
15	SMPR 10	-	1,65	1,26	2,30
16	ISP1R-1	1,23	-	-	1,28
17	ISP1R-2	-	-	-	0,81
18	ISP1R-3	1,64	1,52	-	-
19	ISP1R-4	1,57	1,28	1,53	2,03
20	ISP2R-1	1,46	-	-	-
21	ISP2R-2	2,58	1,16	2,3	1,55
22	ISP2R-3	-	0,76	0,95	0,94

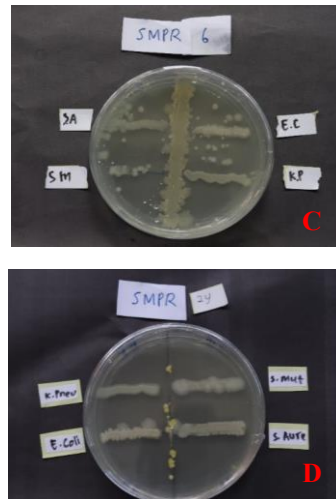
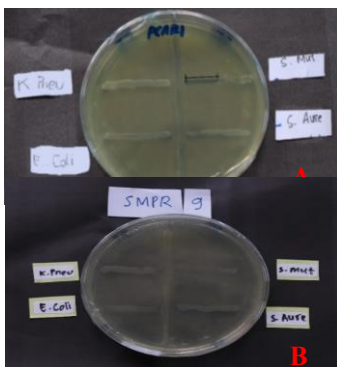
Tabel 4 menunjukkan isolat yang mampu menghambat bakteri uji *E. coli* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,69 mm diikuti dengan isolat ISP2R-2 dan ZR2 dengan zona hambat berturut-turut sebesar 2,58 mm dan 2,39 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *E. coli* adalah isolat dengan kode ZR3 sebesar 0,34 mm.

Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *K. pneumoniae* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR2Y dengan zona hambat sebesar 3,93 mm diikuti dengan isolat SMPR1 dan SMPR2X dengan zona hambat berturut-turut sebesar 3,04 mm dan 2,56 mm. Sedangkan isolat yang

memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *K. pneumoniae* adalah isolat dengan kode SMPR7 sebesar 0,52 mm.

Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. aureus* tertinggi adalah isolat dengan kode SMPR9 dengan zona hambat sebesar 2,47 mm diikuti dengan isolat ISPR2-2 dan isolat ZR4 dengan zona hambat berturut-turut 2,30 mm dan 2,11 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. aureus* adalah isolat dengan kode SMPR4 sebesar 0,47 mm.

Isolat yang mampu menghambat bakteri uji *S. mutans* tertinggi adalah isolat dengan kode PCAR1 dengan zona hambat sebesar 9,21 mm diikuti dengan isolat SMPR9 dan SMPR6 dengan zona hambat berturut-turut 7,89 mm dan 6,67 mm. Sedangkan isolat yang memiliki zona hambat terkecil terhadap bakteri uji *S. mutans* adalah isolat ISP1R-2 sebesar 0,81 mm.



Gambar 3. Isolat dengan daya hambat tertinggi untuk setiap bakteri uji. A. PCAR1, B. SMPR 9, C. SMPR 6, SMPR2Y

### PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sebanyak 32 isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* telah diisolasi dengan menggunakan enam jenis media pertumbuhan berbeda. Tujuan penggunaan media tumbuh yang bervariasi adalah untuk mendapatkan sebanyak mungkin koloni bakteri yang bisa diisolasi. Secara umum, kandungan media menentukan jenis bakteri yang bisa ditumbuhkan pada media agar (Sari, 2019). Dalam penelitian ini media agar yang

komposisinya tidak mengandung garam laut dilarutkan dengan *artificial seawater* (ASW) yang bertujuan untuk menjaga tekanan osmosis sehingga menyerupai kondisi air laut (Henson *et al.*, 2016). Diharapkan dengan kondisi tekanan osmosis yang sama maka bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum* dapat tumbuh pada media sintetik.

Koloni yang tumbuh pada media agar cukup bervariasi dan dengan sejumlah koloni memiliki kenampakan visual yang sama. Maka dari itu pemilihan koloni bakteri didasarkan pada metode *colony morphology code* yaitu suatu cara pengelompokan koloni berdasarkan kenampakan morfologinya. Koloni dengan kode CMC yang berbeda diasumsikan berasal dari jenis yang berbeda untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Tiga puluh dua isolat bakteri yang diisolasi mencirikan individu yang unik dan maka dari itu diduga mewakili jenis bakteri yang berbeda. Meskipun jumlah koloni yang didapat cukup bervariasi, sangat disadari bahwa tidak mungkin untuk mengisolasi seluruh bakteri yang berasosiasi dengan *E. spinosum*. Hal ini karena secara natural tidak semua bakteri

mampu tumbuh pada kondisi laboratorium khususnya pada media sintetik akibat tidak adanya interaksi dengan bakteri lain ataupun ketiadaan molekul pertumbuhan yang disintesis oleh inangnya yang dikenal sebagai *plate count anomaly* (Reguera, 2016). Hal ini dibuktikan dari hasil penelitian dengan pendekatan *culture-independent approach* yang melaporkan 24 filum bakteri berasosiasi pada rumput laut (Selvarajan *et al.*, 2019). Sedangkan hanya sekitar 0.5% dari jumlah tersebut yang dapat tumbuh pada media agar yang menunjukkan kesenjangan hasil antara pendekatan *culture dependent* dan *culture independent approaches* (Lagier *et al.*, 2015). Seluruh isolat yang diperoleh pada penelitian ini hanya dikarakterisasi secara morfologi tanpa identifikasi secara molekuler sehingga tidak diketahui pengelompokan dari setiap isolat pada tingkatan filum. Amplifikasi dan sekuensing fragmen gen 16S rRNA gen merupakan tahapan lanjutan untuk memastikan identitas jenis dari isolat bakteri yang diperoleh khususnya isolat dengan aktivitas antibakteri.

Skринing antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan *E. spinosum* menjadi tujuan khusus dari penelitian ini untuk mendapatkan isolat potensial dengan sifat antagonis terhadap bakteri uji untuk dikembangkan dalam dapat memproduksi senyawa antibakteri. Metode *perpendicular streak* dipilih karena relatif mudah dikerjakan dan dapat secara efektif menyeleksi aktivitas antibakteri dari suatu isolat tanpa perlu melakukan tahapan ekstraksi (Velho-Pereira & Kamat, 2011). Isolat bakteri yang mampu mensintesis senyawa antibakteri akan mendifusikan molekul aktifnya melalui media agar sehingga bakteri uji tidak akan mampu mendekati koloni dari isolat bakteri. Semakin jauh jarak bakteri uji dari isolat mengindikasikan aktivitas antibakteri yang kuat dari isolat (Chakraborty *et al.*, 2017).

Potensi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut sebagai sumber senyawa antibakteri telah menjadi fokus studi dalam satu dekade terakhir (Karthick & Mohanraju, 2018; Singh *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2011). Secara mikroskopis enam bakteri yang diisolasi dari

media khusus yaitu isolat SMPR2X, SMPR2Y, SMPR6, SMPR10, ISP1R-3, ISP1R-4 memiliki karakteristik menyerupai aktinobakteria yaitu Gram positif, bentuk sel batang dan koloni mencekram agar. Keenam isolat tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri yang umum ditemukan pada kelompok Aktinobakteria (Barka *et al.*, 2016). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa Aktinobakteria yang berasosiasi dengan rumput laut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap sejumlah bakteri patogen (Ulfah *et al.*, 2018). Selain kelompok Aktinobakteria, aktivitas antibakteri dari isolat yang berasosiasi dengan rumput laut juga banyak dilaporkan dari jenis bakteri lain seperti *Bacillus* sp (Chakraborty *et al.*, 2017., Purnami *et al.*, 2022).

Pada hasil penelitian ini ditemukan variasi aktivitas antibakteri dari 22 isolat bakteri yang ditampilkan pada Tabel 3. Adanya variasi aktivitas antibakteri dimungkinkan karena setiap isolat memerlukan kondisi optimum pertumbuhan yang tidak secara mutlak dapat diakomodasi menggunakan media umum seperti

LB agar. Meskipun demikian, hasil skrining antibakteri pada setiap isolat seperti yang ditunjukkan oleh isolat SMPR2Y, PCAR1, SMPR6 dan SMPR9 telah memberikan informasi awal tentang spesifisitas setiap isolat terhadap setiap jenis bakteri uji Gram positif ataupun Gram negatif. Upaya verifikasi dengan mengujikan kepada jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya akan menjadi tahapan selanjutnya untuk memberikan perspektif yang lebih akurat terkait spesifisitas jenis senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh setiap isolat.

Hasil penelitian ini secara umum mempertegas potensi bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut *E. spinosum* sebagai penghasil senyawa antibakteri. Aktivitas antibakteri yang terdeteksi, meskipun tergolong relatif kecil pada sebagian besar isolat, menjadi indikasi awal bahwa isolat-isolat bakteri *E. spinosum* berpotensi mensintesis senyawa antibakteri. Fermentasi, ekstraksi dengan pelarut kimia berbeda dan analisis kandungan ekstrak merupakan tahapan lanjutan untuk mengetahui

potensi sintesis senyawa antibakteri dan potensi bioaktivitas lain seperti antivirus, antijamur, antikanker, dan antioksidan.

#### **KESIMPULAN**

Hasil penelitian ini berhasil mengisolasi 32 isolat bakteri dari rumput laut *Eucheuma spinosum* dengan sebaran 14 isolat berasal dari media umum dan 18 isolat berasal dari media khusus yang menargetkan aktinobakteria. Dua puluh dua isolat bakteri mampu menghambat sekurangnya satu bakteri berdasarkan uji *perpendicular streak* dengan isolat PCAR1 dan SMPR9 menunjukkan daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *S. mutans*.

#### **SARAN**

Penelitian lanjutan akan difokuskan untuk mengidentifikasi isolat dengan aktivitas antibakteri terbaik menggunakan metode sekuensing gen 16S rRNA dan karakterisasi lanjutan yang meliputi optimasi pertumbuhan isolat, fermentasi, ekstraksi senyawa aktif dan pengujian ekstrak dari setiap isolat terbaik untuk memverifikasi aktivitas antibakteri yang telah diamati.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas hibah penelitian yang diberikan oleh Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (UPPM) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa no hibah: 382/Unwar/FKIK/PD-13/IV/2021.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggadiredja, T.A., H. Zalnika., Purwoto, dan Istini. 2009. Rumput laut. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Aslan, L. M. 1998. Budidaya Rumput Laut., Indonesia: Kanisius, Yogyakarta.
- Ausubel, F.M., R. Brent., R.E. Kingston., D.D. Moore, J.G. Seidman, and J.A. Smith. 1994. *In: K. Struhl (ed.). Current protocols in molecular biology*, vol. 1. USA: Green Publishing Associates, Inc., Brooklyn, N.Y.
- Barka, E.A., P. Vatsa., L. Sanchez., N. Gaveauvaillant., C. Jacquard., H. Klenk., C. Clément., Y. Ouhdouch, and P. V. Wezel. 2016. Taxonomy, Physiology , and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(1): 1–43.
- Beveridge, T. J. 2001. Use of the Gram stain in microbiology. *Biotechnic & Histochemistry*. 76 (3)
- Bolinches, J., M.L Lemos, and J.L Barja. 1988 Population dynamics of heterotrophic bacterial communities associated with *Fucus vesiculosus* and *Ulva rigida* in an estuary. *Microbial Ecology* 15: 345–357.
- Chakraborty, K., B. Thilakan, and V.K. Kizhakkalam. 2017. Antibacterial aryl-crowned polyketide from *Bacillus subtilis* associated with seaweed *Anthophycus longifolius*. *Journal of Applied Microbiology*. 124(1): 108-125.
- Chakraborty, K., B. Thilakan, and V. K. Raola (2017). Phytochemistry Antimicrobial polyketide furanoterpenoids from seaweed-associated heterotrophic bacterium *Bacillus subtilis* MTCC 10403. *Phytochemistry*. 142: 112–125.
- De Koster, S., J.P.R. Ruiz., S.G. Rajakani., C. Lammens., Y. Glupczynski., H. Goossens and B.B Xavier. 2022. Diversity in the Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* ST101 of Human, Environmental, and Animal Origin. *Frontiers in Microbiology*. 13: 838207.
- Ginting, E.L., L Rangan., L.Wantania, and S. Wullur. 2019. Isolation of Symbiotic Bacteria with Red Algae from Tongkaina Waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2): 395.
- Henson, M.W., D.M. Pitre., J.L.Weckhorst., V. C. Lanclos., A.T. Webber, and J.C.Thrash. 2016. Artificial Seawater Media Facilitate Cultivating Members of the Microbial Majority from the Gulf of Mexico. *mSphere*. 1(2): 1–10.
- Hollants, J., F. Leliaert., O.D. Clerck, and A.Willems. 2013. What We Can Learn from Sushi: A Review on Seaweed-bacterial Associations. *FEMS Microbiology Ecology*, 83: 1-16
- Hudha, M.I., R. Sepdwiyantri, and S.D. Sari. 2012. Ekstraksi Karaginan dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2): 17–20.
- Delvia, F., A. Fridayanti, and A. Ibrahim. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.).1(2): 159–163. *Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.
- Indraningrat, A.A.G., S. Micheller., M. Runderkamp., I. Sauerland., L. E. Becking., H.Smids, and D.Sipkema. 2019. Cultivation of Sponge-Associated Bacteria from *Agelas sventres* and *Xestospongia muta* Collected from Different Depths. *Marine Drugs*, 17(10).

- Indraningrat, A.A.G., M.D. Wijaya., P.A. Suryanditha., A. S. Siskayani, and N.M. D. Janurianti. 2021. Antibacterial Screening of Bacterial Isolates Associated with Mangrove Soil from the Ngurah Rai Mangrove Forest Bali. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*. 10(2): 129–133.
- Karthick, P, and R. Mohanraju, 2018. Antimicrobial Potential of Epiphytic Bacteria Associated With Seaweeds of Little Andaman, India. *Frontiers of Microbiology*. 9(611): 1–11.
- Krzyściak, W., A. Jurczak., D. Kościelniak., B. Bystrowska, and A. Skalniak. 2014. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *European Journal Clinical Microbiology Infections Diseases*. 33: 499–515.
- Lagier, J., S. Edouard., I. Pagnier., O. Mediannikov., M. Drancourt, and D. Raoult. 2015. Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 28(1): 208–236.
- Lozano, C., H. Gharsa., K.B. Slama., M. Zarazaga, and C. Torres. 2016. *Staphylococcus aureus* in Animals and Food: Methicillin Resistance, Prevalence and Population Structure. A Review in the African Continent. *Microorganisms*, 4(1): 12.
- Nandina, R. Q., dan S. Pujiyanto. 2019. Skrining Aktivitas Antibakteri and Identifikasi Molekuler Berdasarkan Gen 16S rRNA Isolat Aktinomiset Asal Pulau Enggano dan Bali. *Berkala Bioteknologi*, 2(2).
- Purnami, PPCP., A.A.G Indraningrat, and I.B.G. Darmayasa. 2022. Antibacterial activity screening of bacterial isolates associated with seaweed *Eucheuma cottonii* from coastal area in Buleleng, Bali. *Journal of Tropical Biology*. 10(2): 132-140.
- Rahmayanti, S., R. Massinai, and M. Supriadi, 2019. Kepadatan Bakteri Symbion Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) yang Berasal dari Perairan Puntondo, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, 6.
- Ramos, S., V. Silva., M.d.L.E. Dapkevicius., M. Caniça., M.T. Tejedor-Junco., G. Igrejas, and P. Poeta. 2020. *Escherichia coli* as Commensal and Pathogenic Bacteria among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Production. *Animals*. 10: 2239.
- Reguera, G. 2016. The Great Plate Count Anomaly. *In the Company of Microbe*. 288–291.
- Sari, L. P. 2019. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dengan Menggunakan Umbi Jalar Cilembu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) untuk Bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Salmonella typhii* dan *Escherichia coli*. (Skripsi). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Selvarajan, R., T. Sibanda., S. Venkatachalam., H.J.O. Ogola., C. Obieze., and T.A. Msagati. 2019. Distribution, Interaction and Functional Profiles of Epiphytic Bacterial Communities from the Rocky Intertidal Seaweeds, South Africa. *Scientific reports*, 9(1): 19835.
- Singh, R. P., P. Kumari, and C.R.K. Reddy. 2015. Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(4):1571–1586.
- Sieburth, J.M. 1968. The influence of algal antibiosis on the ecology of marine microorganisms. *In*. Droop MR & Wood J, eds. *advances in microbiology of the sea*: 63–94. UK: Academic. Press.
- Supriyantini, E., G.W. Santosa, and L.N. Alamanda. 2018. Pertumbuhan Rumput Laut *Gracilaria* sp. pada Media yang Mengandung Tembaga (Cu) dengan Konsentrasi yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 7(1):15.
- Taylor, P., F. Persson., R. Svensson., G.M. Nylund., N.J. Fredriksson, and M. Hermansson, 2011. Ecological role of a

seaweed secondary metabolite for a colonizing bacterial community. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm*, 27(6): 37–41.

Ulfah, M., N. Kasanah, and N.S.N. Handayani. 2018. Bioactivity and genetic screening of marine actinobacteria associated with red algae *Gelidiella acerosa*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 22(1): 13.

Velho-Pereira, S, and N.M. Kamat. 2011. Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method. *Indian Journal of Pharmaceutical sciences*, 73(2): 223–228.

Notifications



**[metamorfosa] Editor Decision**

2023-03-22 02:11 PM

Anak Agung Gede Indraningrat:

We have reached a decision regarding your submission to *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, "Skrlning Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumpuk Laut *Eucheuma spinosum*".

Our decision is to: accepted

Editor in Chief  
jurnal\_metamorfosa@unud.ac.id

*Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*