

## ISOLASI DAN KARAKTERISTIK BAKTERI YANG BERSIMBIOSIS DENGAN SPONS AGELAS CLATHRODES, MYCALE LAXISIMA DARI PERAIRAN PANTAI KURENAI, TELUK TOMINI GORONTALO

Sri Cici Pakaya<sup>1</sup>, Rahim Husain<sup>2</sup>, Fernandy M. Djailani<sup>3</sup>

[cicipakaya76@gmail.com](mailto:cicipakaya76@gmail.com)<sup>1</sup>

Universitas Negeri Gorontalo

### ABSTRAK

Bakteri mampu bersimbiosis dengan spons karena memiliki hubungan simbiosis secara mutualisme antara spons dengan bakteri. Hubungan ini mempengaruhi siklus biogeokimia dari nutrisi utama seperti karbon, nitrogen dan fosfor sehingga terdapat beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons (Pita et al., 2018). Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri yang bersimbiosis dengan spons dari perairan pantai kurenai teluk tomini gorontalo. Mengidentifikasi karakteristik bakteri yang bersimbiosis dengan spons dari perairan pantai kurenai teluk tomini gorontalo. Metode penelitian adalah metode deskriptif kualitatif dengan tahapan yaitu preparasi sampel, sterilisasi alat dan media, isolasi, pemurnian isolat, pengamatan karakteristik morfologi bakteri secara makroskopik dan mikroskopik, karakteristik bakteri pada media agar miring, dan uji fermentasi karbohidrat. Hasil penelitian berdasarkan karakter morfologinya diperoleh 4 isolat dengan ciri isolat S1 10 -1 bentuk bulat beraturan, tepi berlekuk, permukaan timbul, warna putih, bentuk coccus, gram positif, isolat S1 10-2 dengan bentuk bulat tak beraturan, tepi berserabut, permukaan datar, warna putih, bentuk bacil, gram negatif, isolat S2 10 -1, dengan bentuk bulat beraturan, tepi rata, permukaan datar, warna kuning, bentuk basil, gram negatif, isolat S2 10-2 dengan bentuk bulat tak beraturan, tepi rata, permukaan datar, warna putih, bentuk coccus, gram positif. Selanjutnya isolat yang memfermentasi karbohidrat, yaitu isolat S2 10-1 dan isolat S2 10-2, sedangkan S1 10-1, dan S2 10-2, tidak terjadi fermentasi karbohidrat.

**Kata Kunci:** Isolasi, Karakteristik, Bakteri Bersimbiosis Pada Spons.

### ABSTRACT

*Bacteria are able to form a symbiosis with sponges because they have a mutualistic symbiotic relationship between sponges and bacteria. This relationship affects the biogeochemical cycle of primary nutrients such as carbon, nitrogen, and phosphorus, so that several types of bacteria form a symbiosis with sponges (Pita et al., 2018). This study aims to isolate bacteria that form a symbiosis with sponges from the coastal waters of Kurenai, Tomini Bay, Gorontalo. Identify the characteristics of bacteria that form a symbiosis with sponges from the coastal waters of Kurenai, Tomini Bay, Gorontalo. The research method is a qualitative descriptive method with stages, namely sample preparation, sterilization of tools and media, isolation, purification of isolates, observation of bacterial morphological characteristics macroscopically and microscopically, bacterial characteristics on slant agar media, and carbohydrate fermentation tests. The results of the study based on morphological characteristics obtained 4 isolates with the characteristics of isolate S1 10-1 regular round shape, grooved edges, raised surface, white color, coccus shape, gram positive, isolate S1 10-2 with irregular round shape, fibrous edges, flat surface, white color, bacillus shape, gram negative, isolate S2 10-1, with regular round shape, flat edge, flat surface, yellow color, bacillus shape, gram negative, isolate S2 10-2 with irregular round shape, flat edge, flat surface, white color, coccus shape, gram positive. Furthermore, isolates that ferment carbohydrates, namely isolate S2 10-1 and isolate S2 10-2, while S1 10-1, and S2 10-2, do not occur carbohydrate fermentation.*

**Keywords:** Isolation, Characteristics, Symbiotic Bacteria In Sponges.

## PENDAHULUAN

Spons adalah salah satu spesies biota laut yang tersedia (Suwarso et al., 2017). Pantai kurenai merupakan salah satu pantai di teluk tomini yang memiliki berbagai jenis biota laut, salah satunya spons (Isnawati, 2019). Menurut Haedar (2016), Spons adalah organisme laut invertebrata dari filum porifera, dengan tubuh yang dipenuhi dengan jumlah pori-pori yang besar, hewan yang berfungsi sebagai penyaring makanan dikenal sebagai spons. Spons laut adalah makhluk yang tidak bergerak, mereka hidup di berbagai tempat, seperti pasir, batu, karang mati, dan media yang memiliki struktur yang kuat (Asro et al., 2013).

Spons berpartisipasi dalam siklus karbon, silikon, dan nitrogen, selain siklus organisme lainnya, spons berfungsi sebagai penyedia utama dan tambahan mikrohabitat (Bell, 2008). Spons membentuk ekosistem laut dan pesisir secara ekologi terutama di padang lamun dan ekosistem terumbu karang di perairan tropik dan subtropis (Samawi et al., 2009). Keanekaragaman hayati spons dalam lingkungan tertentu biasanya dipengaruhi oleh air yang bebas arus dan jernih. Selain itu, spons dapat ditemukan pada setiap kedalaman, yang memungkinkan pertumbuhannya (Haedar et al., 2016).

Bakteri adalah kumpulan makhluk hidup yang tidak memiliki membran sel mereka termasuk dalam lingkungan prokariota yang sangat kecil secara mikroskopik, tetapi mereka memainkan peran penting dalam kehidupan di bumi. Bakteri hidup di hampir setiap tempat, baik di dalam tanah, air, atau udara bahkan dalam tubuh manusia, bakteri pertumbuhan dapat bersimbiosis dengan spons dan banyak organisme laut bentuk lainnya (Abubakar et al., 2011).

Mikroba satu jenis dapat dipisahkan dari mikroba jenis lain karena prinsip isolasi mikroba menumbuhkannya, dalam media padat yang disebut media natrium agar cara terbaik untuk mencapai hal ini. Media NA (Nutrient Agar) adalah media yang paling umum digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Media semi alami adalah kategori media yang terdiri dari bahan alami yang dikombinasikan dengan senyawa kimia, media ini berbentuk padat karena mengandung agar sebagai pematangnya, penampilan atau morfologi koloni bakteri biasanya diamati melalui media padat ini (Munandar, 2016).

Beberapa jenis bakteri memiliki kemampuan untuk bersimbiosis dengan spons, karena mutualisme simbiosis antara bakteri dan spons yang memengaruhi siklus biogeokimia nutrisi penting seperti karbon, nitrogen, dan fosfor (Pita et al., 2018). Banyak zat bioaktif telah dikumpulkan beberapa Bakteri yang bersimbiosis dengan spons dapat menghasilkan senyawa bioaktif, dan organisme perairan laut Manado adalah senyawa baru, kemampuan ini bukan hanya menunjukkan perbedaan dalam struktur komunitas bakteri, tetapi juga dapat menjadi langkah pertama menuju solusi masalah penyediaan senyawa bioaktif salah satunya adalah spons (Sulasi et al., 2013).

Spons bersimbion dengan bakteri dan alga, komunitas bakteri bersimbion membentuk 40% biomassa spons tubuh, menurut Ismet (2007). Bakteri-bakteri ini menghasilkan senyawa bioaktif yang membantu spons menyesuaikan diri dengan lingkungannya, sejauh ini proses yang terjadi ketika spons berinteraksi dengan mikroba simbiotiknya masih belum sepenuhnya diketahui. Karena ada hubungan mutualisme simbiosis antara spons dan bakteri, bakteri dapat bersimbiosis dengan spons, mikroorganisme memainkan peran penting dalam berbagai interaksi organisme yang hidup di lingkungan akuatik. Siklus biogeokimia yang berkaitan dengan nutrisi, termasuk karbon, nitrogen, dan fosfor dipengaruhi oleh hubungan ini, sehingga beberapa jenis bakteri tumbuh bersama spons, simbiosis ini termasuk Archaea, Sianobakteria dan Mikroalga (Pita et al., 2018).

## **METODE PENELITIAN**

### **Pembuatan media Media Nutrient agar (Na)**

Media padat terbuat dari cara tertentu yaitu, 15gram Na (Nutrient agar) ditimbang, masukkan ke dalam erlenmeyer dan campurkan dengan 100 ml aquades (15 gram per 100 ml). Selanjutnya, media dibersihkan pada suhu 121 oC dalam autoklaf selama 15 menit, dan kemudian didiamkan selama beberapa saat. Selanjutnya, dua puluh cawan petri steril, masing-masing berisi 20 ml media, dimasukkan dan diséal menggunakan plastik bungkus agar media tidak terkontaminasi. Bakteri simbion awal ditanam dari sampel yang telah diencerkan secara berseri dengan media ini.

### **Media Pembenuhan**

Timbang 2,5 gram Na (media pembenuhan) ke dalam erlenmeyer, kemudian tambahkan 80 ml aquades ke dalamnya dan kocok hingga rata. Setelah itu, autoklaf dibersihkan selama lima belas menit pada suhu 121 oC dan kemudian dibiarkan beberapa saat, selanjutnya, media untuk menyebarkan mikroba, masing- masing sepuluh mililiter dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan didiamkan hingga padat.

### **Isolasi dan Purifikasi Bakteri**

Untuk memastikan bahwa koloni bakteri simbion spons akan tumbuh pada media isolasi, menurut Hafsari dan Asterina (2013), aquades digunakan terlebih dahulu untuk membersihkan spons untuk menghilangkan kotoran. Setelah itu, masing-masing sampel spons dipotong menjadi potongan kecil, lalu dihaluskan dengan alu dan lumpang sampai menghasilkan ekstrak spons. Selanjutnya, sampel sebanyak 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan aquades 9 ml. Selanjutnya, pengenceran 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, dan 10-5 dilakukan dengan masing-masing pengenceran ditanam pada media Nutrient Agar menggunakan mikropipet yang sudah steril untuk secara akurat mengambil atau memindahkan cairan dalam jumlah kecil (Anatomi, 2004).

Metode sebaran pada cawan petri, cawan petri diinkubati pada suhu 37 oC selama 1x24 jam. Hasil pengenceran dan teknik penyebaran ekstrak ini dilakukan karena bakteri berada pada fase logaritmik atau eksponensial, dimana bakteri membelah dan menghasilkan lebih banyak sel, waktu 24 jam merupakan waktu panen, di mana bakteri bakteri berada pada fase logaritmik atau eksponensial, menghasilkan jumlah sel yang paling banyak, yaitu mencapai 10 sampai 15 miliar sel bakteri (Pleazar dan chan, 2008).

Ciri morfologi isolat bakteri, seperti ukuran, bentuk, warna, dan elevasi, dipisahkan berdasarkan karakteristik dan morfologi. Selanjutnya, isolat bakteri ini ditumbuhkan pada media Nutirent agar untuk disimpan dan dijadikan stok. menghindari kontaminasi oleh mikroorganisme lain, semua proses penelitian dilakukan secara aseptik dengan api bunsen dan dalam bilik laminar (Madigan et al., 2012).

### **Karakterisasi Isolat Bakteri Simbion Spons**

#### **Pengamatan Morfologi Koloni Morfologi Isolat Bakteri Simbion Spons Secara Makrokopis**

Pengamatan koloni dilakukan pada isolat yang telah diisolasi dengan metode penanaman langsung dan pengkayaan. Menurut (Ariyanto et al., 2013), melaporkan bahwa pengamatan koloni secara makroskopis meliputi warna koloni, bentuk koloni, permukaan koloni, dan pertumbuhan koloni.

#### **Pengamatan Koloni Pada media agar miring**

Pengamatan koloni pada media miring yang mengandung agar sebanyak 0,3% - 0,4% , media agak dimiringkan sampai padat sehingga media menjadi kenyal tidak padat dan tidak begitu cair. Media dimasukkan dalam tabun reaksi sebanyak 7 ml kemudian diinokulasi menggunakan jarum ose needle diinkubasi selama 1x24 Jam kemudian diamati koloni

bakteri pada media miring (Cappucino and Sherman, 2008).

### **Pengamatan Morfologi Sel Bakteri secara Mikroskopis**

Hasil pewarnaan dilihat dibawah mikroskop dengan permbesaran 1000x400 untuk memperjelas morfologi sel bakteri ditetesi dengan minyak imersi diatas cover glass. Sel bakteri Gram positif akan berwarna ungu hingga biru, sedangkan bakteri Gram negatif akan **berwarna merah (Cappuccino and Sherman, 1998).**

### **Uji Fermentasi Karbohidrat**

Uji fermentasi karbohidrat menggunakan media fenol red, uji ini bertujuan untuk mengetahui metabolisme bakteri, ditandai dengan perubahan warna kuning dan merah pada tabung reaksi dan tabung durham. Bakteri yang diinokulasi berumur 24 jam di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Novel et al., 2010).

### **Rancangan Penelitian dan Analisis Data**

Pada penelitian ini desain yang digunakan bersifat eksploratif yaitu dengan tujuan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari spons laut. Analisis data yang diperoleh bersifat kualitatif data kualitatif diperoleh dengan mengamati morfologi koloni bakteri simbion secara makroskopik dan mikroskopik.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Identifikasi Sampel Spons**

Sampel spons yang telah diambil dilakukan identifikasi. Sampel diambil dari perairan Pantai Kurenai Teluk Tomini Gorontalo dengan ukuran 5 sampai 6 cm pada kedalaman 4 m, suhu 27 oC pH 7,8 dan salinitas 30 ppt. Ciri-ciri morfologi spons Kelas Demospiange, bentuk tubuh, permukaan dan warna yang berbeda- beda. Saluran keluar air (oskula) terlihat jelas namun tidak beraturan karena memiliki ukuran yang lebih besar dan kecil. Pada saluran masuk air ke dalam tubuh spons melalui pori-pori kecil (ostia) terlihat kurang jelas, hasil identifikasai sesuai dengan (Utami et al., 2016). Berikut adalah hasil gambar dan tabel identifikasi morfologi spons Kelas Demospongiae.



*Agelas Clathrodes*



*Mycale Laxisima*

### **Hasil Identifikasi Morfologi Spons.**

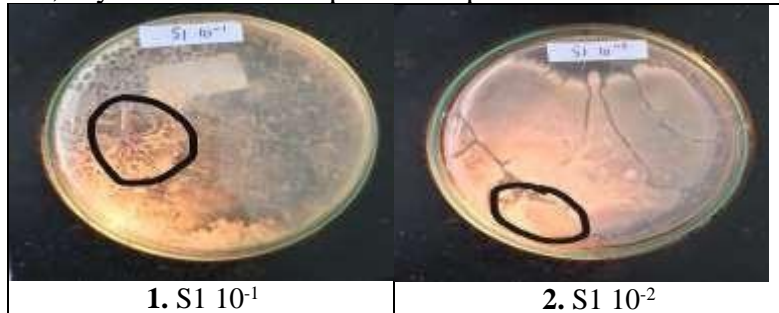
No	Spesies	Famili	Penemu
1.	<i>Agelas Clathrodes</i>	<i>Agelasidae</i>	Schmidt, 1870
2.	<i>Mycale laxisima</i>	<i>Mycalidae</i>	Duchassaing & michelotti, 1964

Dari kedua spesies spons yang diperoleh dari Pantai Kurenai Teluk Tomini Gorontalo, setelah dianalisis morfologi diperoleh hasil ada 2 famili terdiri atas 2 spesies, spesies *Agelas Clathrodes* dengan famili *Agelasidae*, berwarna orange dengan bentuk halus spesies *Mycale laxisima*, famili *Mycalidae*, berwarna merah dengan bentuk seperti bercabang- cabang.

### **Isolasi dan Purifikasi Bakteri Simbion spons Isolasi Bakteri Simbions Spons**

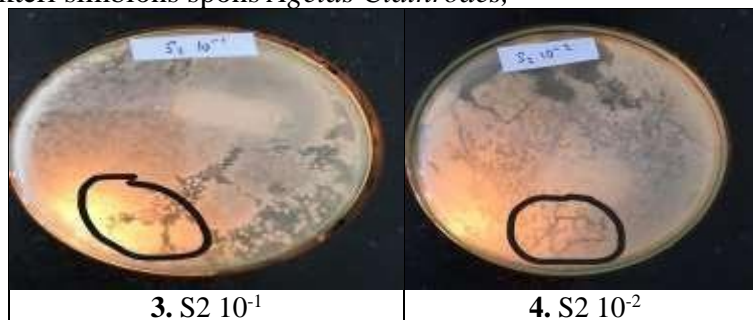
Hasil isolasi yang berhasil dilakukan terdapat 10 isolat bakteri didapatkan dari ekstrak sampel spons yang telah diisolasi. Dari kesepuluh hasil isolat hanya empat isolat yang diambil karena empat isolat tersebut dapat terlihat jelas bakteri yang telah ditumbuhkan pada cawan petri, keempat isolat tersebut dilanjutkan untuk dikarakterisasi untuk menentukan morfologi bakteri. Setelah dikarakterisasi bakteri dilanjutkan untuk dipurifikasi (pemurnian) dengan menggunakan metode gores pada media Na (Nutrient agar) isolat yang didapatkan

diberi kode bakteri. Morfologi bakteri diamati secara makroskopis dengan mengacu pada (Cappucino dan Sherman, 1998). Hasil dari isolasi bakteri yang bersimbions pada spons Agelas Clathrodes, Mycale Laxisima dapat dilihat pada Gambar berikut.



(Sumber data : primer)

Hasil isolasi bakteri simbiosis spons *Agelas Clathrodes*,

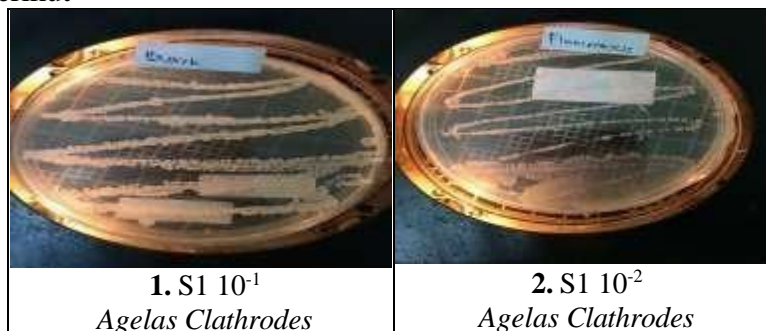


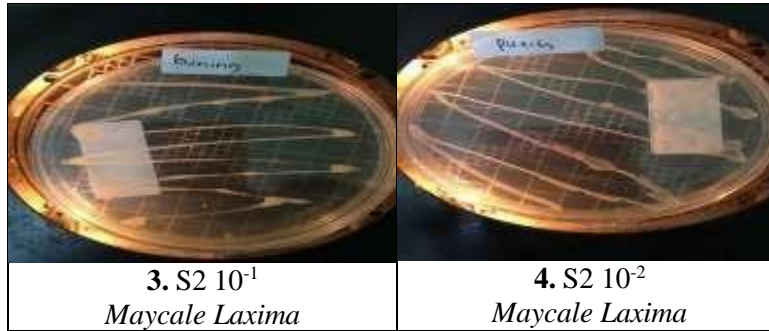
Gambar Hasil isolasi bakteri simbiosis spons *Maycale Laxima*  
(Sumber data : primer)

Berdasarkan Gambar yang telah disajikan dari hasil isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media diperkaya mengandung Na (Nutrient agar) dan ekstrak spons yang telah dilakukan isolasi dan diinkubasi selama 1x24 jam. Sampel spons *Agelas Clathrodes*, yang diberi kode isolat S1 10-1 dan S1 10-2, dapat dilihat adanya pertumbuhan bakteri yang berwarna putih dan berbentuk circular (bulat beraturan) dan irregular (bulat tak beraturan), memiliki elevasi raised (timbul) dan flat (datar) dengan margin lobate (tepihan berlekuk) dan filamentous (berserabut). Sedangkan sampel spons *Maycale Laxima* yang diberi kode isolat S2 10-1 dan S2 10-2, dapat dilihat adanya pertumbuhan bakteri yang berwarna kuning dan putih, berbentuk circular (bulat beraturan) dan irregular (bulat tak beraturan), memiliki elevasi flat (datar) dengan margin entire (tepihan rata).

### **Purifikasi (Pemurnian) Bakteri Simbiosis Spons**

Hasil dari isolasi spons menunjukkan adanya pertumbuhan koloni-koloni bakteri pada media agar. Kemudian isolat-isolat tersebut dimurnikan lagi dari kultur bakteri diambil 1 ose secara aseptik lalu diinokulasi dengan cara menggoreskan pada medium Nutrient agar (Na), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil purifikasi dapat dilihat pada gambar berikut





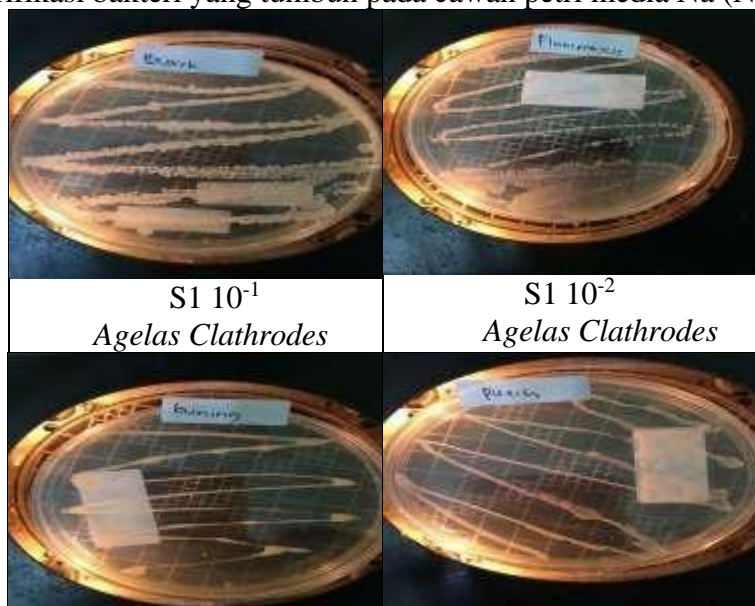
Gambar Hasil purifikasi (pemurnian) bakteri  
(Sumber data: primer)

Berdasarkan hasil dari purifikasi bakteri yang disajikan dalam Gambar purifikasi dilakukan dengan metode gores yang telah diinkubasi selama 1x24 jam dapat dilihat adanya pertumbuhan koloni-koloni bakteri yang sudah terlihat jelas morfologi koloninya pada metode gores zig-zag media Na (Nutrient agar). Pada gambar tersebut sampel spons Agelas Clathrodes, yang telah diberi kode S1 10-1, S1 10-2, terlihat jelas keduanya warna bakteri putih, berbentuk bulat dan memiliki permukaan yang timbul, memiliki tepian berlekuk dan tepian berserabut. Sampel spons Maycale Laxima yang telah diberi kode S2 10-1 dan S2 10-2, terlihat jelas warna bakteri kuning dan putih memiliki bentuk bulat dan bulat tak beraturan, permukaan yang rata dan memiliki tepian yang rata.

Selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopis terdapat empat hasil pemurnian koloni bakteri yang karakteristik berbeda dan diberi kode S1 10-1, S1 10-2 (Agelas Clathrodes), S2 10-1, S210-2 (Maycale Laxima), kemudian isolat- isolat setelah dikarakteristik dimurnikan lagi dari kultur bakteri diambil 1 ose secara aseptik lalu diinokulasi dengan cara menggosokkan pada media agar miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

**Karakteristik Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Morfologi bakteri hasil isolasi dan purifikasi pada cawan petri**

Terdapat isolat bakteri yang didapatkan dari spons, karakter koloni terlihat secara beragam. Karakter koloni tersebut didasarkan pada ciri-ciri koloni yang terlihat pada lempeng agar meliputi bentuk, margin, elevasi dan warna. Berikut gambar morfologi hasil isolasi dan purifikasi bakteri yang tumbuh pada cawan petri media Na (Nutrient agar).



S2 10 <sup>-1</sup> <i>Maycale Laxima</i>	S2 10 <sup>-2</sup> <i>Maycale Laxima</i>
--	--

(Sumber data :primer)

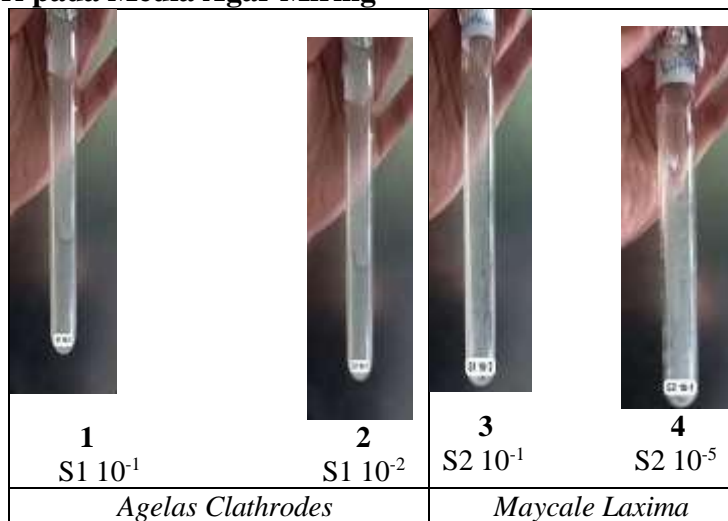
Gambar Morfologi hasil isolasi dan purifikasi bakteri simbiosis spons Keterangan gambar morfologi koloni hasil isolasi dan purifikasi dari bakteri yang tumbuh pada cawan petri media Na (Nutrient agar)

Kode isolat	Bentuk	Warna	Margin	Elevasi
S1 10 <sup>-1</sup>	Circular	Putih	Raised	Lobate
S1 10 <sup>-2</sup>	Irreguler	Putih	Flat	Filamentous
S2 10 <sup>-1</sup>	Circular	Kuning	Flat	Entire
S2 10 <sup>-2</sup>	Irreguler	Putih	Flat	Entire

(Sumber data : Primer)

morfologi koloni hasil isolasi dan purifikasi dari bakteri yang tumbuh pada cawan petri media agar bakteri, yang telah diamati dengan menggunakan alat colony counter dan sudah diberi kode S1 10-1, S1 10-2, S2 10-1, S2 10-2, memiliki koloni yang berbentuk Irreguler (bulat tak beraturan) berbentuk Circular (bulat beraturan), dengan warna dominan adalah putih satu diantaranya berwarna kuning, memiliki elevasi dominan flat (rata) dan raised (timbul), memiliki tepian yang berbeda . Hal ini menandakan bahwa setiap bakteri yang bersimbiosis dengan spons memiliki karakteristik dan jenis yang berbeda (Irianto, 2012).

#### Morfologi Bakteri pada Media Agar Miring



Gambar Morfologi bakteri pada media agar miring

(Sumber data: Primer)

Tabel Keterangan gambar morfologi bakteri pada media agar miring

#### Karakteristik Bakteri Pada Media Agar Miring

Kode isolat	Warna	Tipe Penampakan Koloni
S1 10 <sup>-1</sup>	Putih	<i>Echinulate</i>
S1 10 <sup>-2</sup> ,	Putih	<i>Filiform</i>
S2 10 <sup>-1</sup>	Putih	<i>Effuse</i>
S2 10 <sup>-2</sup> ,	Putih	<i>Echinulate</i>

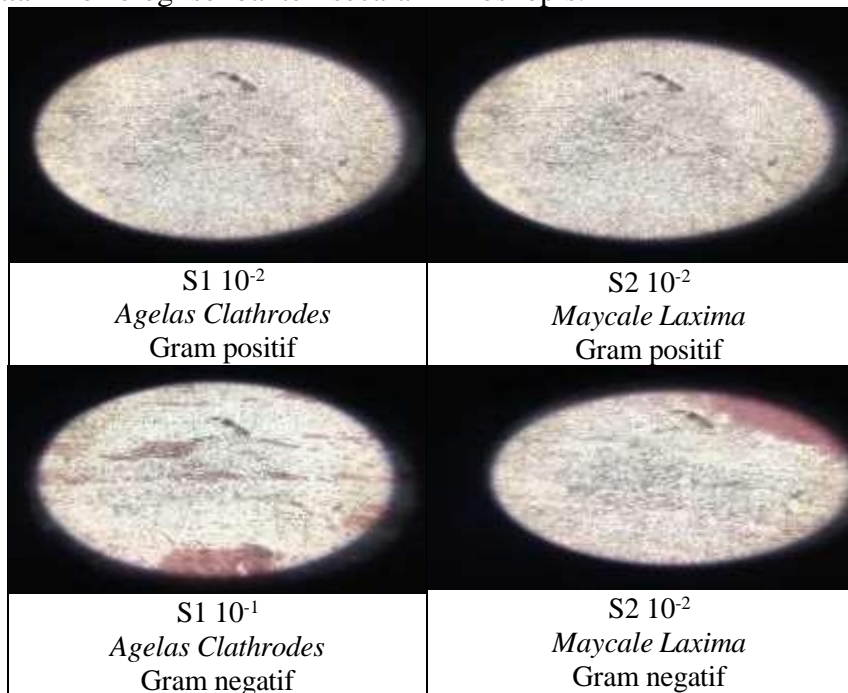
Berdasarkan hasil Tabel dan Gambar yang telah disajikan di atas pengujian bakteri pada media agar miring, isolat S1 10-1 dan S2 10-2, memiliki warna putih dan tipe penampakan koloni echinulate (bentuk benang halus), S1 10-2, memiliki warna putih dan tipe penampakan koloni filiform (bergerigi/berbintik), S2 10-1, berwarna putih memiliki

tipe penampakan koloni effuse (pertumbuhan tipis dan menyebar).

Penggunaan agar miring yaitu untuk mempermudah penggoresan isolat koloni. Dilakukan dengan cara memiringkan media yang bertujuan untuk memperluas permukaan pada media yang ditumbuhi oleh koloni. Selain itu, memudahkan peneliti untuk melihat hasil dari penanaman bakteri tersebut (Damayanti dan Ika, 2010).

**Morfologi Sel Bakteri secara Mikroskopis**

Pada penelitian ini bakteri terlihat gram positif dan bentuk sel terlihat coccus (bulat) yaitu S1 10<sup>-2</sup>, S2 10<sup>-2</sup>, sedangkan S1 10<sup>-1</sup>, S2 10<sup>-1</sup>, Gram negatif terlihat bacil (kapsul). Menurut (Pelczar dan Chan, 1986), sekitar 80% jenis bakteri laut merupakan gram negatif. Bakteri laut 75-85% yang ditemukan pada umumnya berbentuk bacil dan memiliki flagel yang digunakan untuk bergerak aktif di perairan sedangkan bakteri yang berbentuk coccus tidak memiliki alat gerak maka hidupnya akan melekat pada suatu substrak termasuk pada spons. Bakteri yang berbentuk coccus karena adanya bahan berlendir sehingga sel- sel saling terikat atau bergabung dengan sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (solid). Cara ini yang membuat bakteri dapat membentuk lapisan permukaan yang mengakibatkan bakteri dapat hidup bersimbiosis (Hutching dan Saenger dalam Lisdayanti, 2013). Berikut ini pengamatan morfologi sel bakteri secara mikroskopis.



Gambar Morfologi sel bakteri secara mikroskopis  
Tabel Keterangan gambar morfologi sel bakteri secara mikroskopis.

Kode isolat	Keterangan gambar morfologi sel bakteri secara mikroskopis		
	Gram	Warna	Bentuk
S1 10 <sup>-1</sup>	Gram positif	Ungu	Coccus (bulat)
S2 10 <sup>-2</sup>	Gram positif	Ungu	Coccus (bulat)
S1 10 <sup>-2</sup>	Gram negatif	Merah	Bacil (batang)
S2 10 <sup>-1</sup>	Gram negatif	Merah	Bacil (batang)

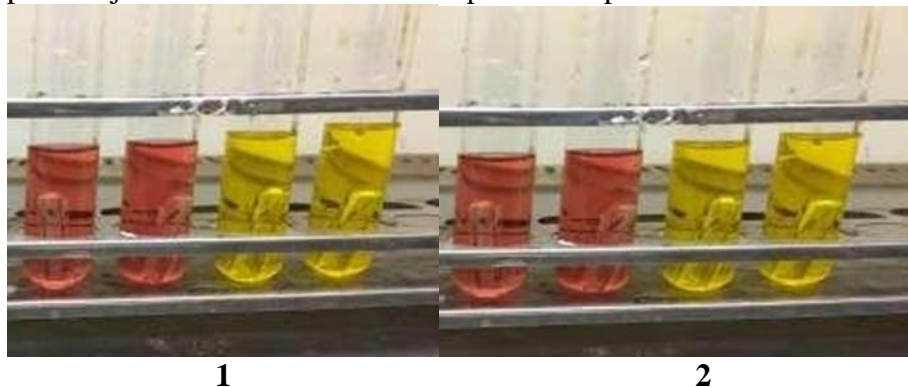
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi yang disajikan pada Gambar dan Tabel diatas sel bakteri melalui metode pewarnaan Gram. Penelitian yang telah di lakukan 4 isolat yang telah di karakterisasi secara makroskopis selanjutnya akan di karakterisasi secara

mikroskopis melalui pewarnaan Gram. Proses pewarnaan Gram dilakukan dengan 4 reagen kimia yaitu iodine, safranin, kristal violet dan lugol, kode isolat S1 10-1, S2 10-2, bakteri simbiosis merupakan Gram positif, warna ungu dengan bentuk coccus (bulat), dan pada kode isolat S1 10-2, S2 10-1, adalah bakteri simbiosis gram negatif, warna merah berbentuk basil (batang). (Feliatra et al., 2004), mengatakan bahwa bakteri Gram positif merupakan bakteri yang memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis, sehingga pada saat bakteri mengalami dehidrasi dengan pemberian alkohol, pori-pori bakteri tersebut akan mengkerut yang menyebabkan warna utama (kristal violet) tidak bisa keluar. Interaksi antara sel bakteri dengan kristal violet akan semakin kuat dengan ditambahkan lugol yang ketika dicuci dengan alkohol bakteri Gram positif akan tetap mengikat kompleks kristal violet-lugol sehingga menjadi warna ungu (Prescot et al., dalam Hidayat 2011), akan tetapi bakteri Gram negatif akan kehilangan kompleks kristal violet-lugol karena lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih tipis sehingga menjadi tidak berwarna. Ketika ditambahkan dengan safranin yang berwarna merah maka bakteri Gram negatif akan menyerapnya sedangkan bakteri Gram positif tidak akan menyerap pewarna lagi.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan teknik konvensional yaitu dengan membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri dengan ciri-ciri 100% serupa, maka dilakukan pendekatan bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru (Harrow dan Feltham, 2003).

#### **Uji Fermentasi Karbohidrat**

Hasil fermentasi karbohidrat oleh bakteri yang bersimbiosis pada spons uji fermentasi menunjukkan terjadi fermentasi karbohidrat karena media mengalami perubahan warna. Perubahan warna diikuti terbentuknya gas pada tabung Durham yang merupakan fermentasi asam campuran. uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada Gambar berikut.



Gambar Hasil uji fermentasi karbohidrat

Berdasarkan gambar yang telah disajikan dari hasil uji fermentasi karbohidrat, perubahan warna kuning pada sampel Spons Maycale Laxima yang telah diberi kode isolat S2 10-1 dan S2 10-2, menunjukkan adanya perubahan fermentasi karbohidrat, sedangkan sampel spons Agelas Clathrodes yang telah diberi kode isolat S1 10-1 dan S1 10-2 tidak terjadi perubahan warna dalam fermentasi karbohidrat. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media cair yang mengandung karbohidrat, maka hasil fermentasi berupa asam dan gas. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH media biakan. Pembentukan asam akan ditandai oleh perubahan warna media menjadi kuning (Lay, 2010).

Uji fermentasi karbohidrat memiliki fungsi untuk mengetahui kemampuan mikrobia

dalam memfermentasi karbohidrat. Salah satu karakteristik suatu spesies bakteri adalah daya fermentasi pada senyawa karbohidrat (laktosa, sukrosa, glukosa, dsb). Karbohidrat yang tersedia difermentasi menjadi macam – macam zat seperti alkohol, asam dan gas, tergantung dari macam nya karbohidrat dan spesies bakteri. Terbentuknya asam dapat diketahui dengan berubahnya warna indicator dalam medium, sedang terbentuknya gas dapat dilihat dengan menggunakan tabung fermentasi durham atau tabung fermentasi lainnya (Sale, 2011).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa dari ke-10 isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons *Agelas Clathrodes*, yang berhasil diisolasi, dan diberi kode isolat S1 10-1, S1 10-2, dan spons *Maycale Laxima* diberi kode isolat S2 10-1, S2 10-2, merupakan isolat yang menghasilkan koloni, dan setelah dilakukan purifikasi (pemurnian) 4 isolat murni yang terdapat koloni, keempat isolat bakteri tersebut memiliki karakteristik yang berwarna putih dan kuning dengan bentuk circular dan irreguler.

Dari empat isolat bakteri tergolong dalam Gram positif berbentuk coccus (bulat) dan tergolong dalam Gram negatif berbentuk basil (batang pendek). Pada uji fermentasi karbohidrat ke empat sampel yang sudah dimurnikan diambil masing- masing 1 goresan menggunakan jarum ose noddle dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi media fenol red. Dari sampel ke enam tadi diantara dua sampel mengalami perubahan warna yang tadinya berwarna merah menjadi kuning itu diakibatkan sampel isolat S2 10 -1 dan S2 10-2 mengandung karbohidrat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar H, Wahyudi AT, Yuhana M. 2011. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Ilmu Kelautan* 16 (1): 35-40.
- Afrianto, L., 2004, Menghitung Mikroba Pada Bahan Makanan, Cakrawala (Suplemen Pikiran Rakyat untuk Iptek), Farmasi FMIPA ITB. Bandung
- Ariyanto, K. (2018). Karno Ariyanto: Implementasi Sistem Penataan Arsip IJEM: Kajian Teori dan Hasil Penelitian Pendidikan, Vol. 1, No. 1, April 2018 | 43. 1(1), 43–67.
- Cappuccino, J.G. Sherman., 2008. *Microbiology: a laboratory manual*. 10 th. Ed pp 30.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 1998. *Microbiology: a laboratory manual*. Pp 50-51.
- Dhormann 2008. Identifying Bacteria and Studying Bacterial Diversity Using The 16 S Ribosomal RNA Gene-Based Sequencing Techniques: A Review. *African Journal of Microbiology Research*. 7(49): 5533-5539.
- Feliatra, I.E dan E. Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogutatus*) Dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. ISSN 1410- 9379.
- Hafsari, R. S. 2020. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta.
- Isnawati, L. (2019). Strategi Pengembangan Fasilitas Menjadi Daya Tarik Wisata Bahari di Pantai Kurenai. *UNG Ac.Id*, 1999 (Februari), 1–6. <http://repository.ung.ac.id>
- Haris A, 2005. Skrining Senyawa Antibakteri Ekstrak Spons Dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan
- Haris, A. 2004. Pertumbuhan, Sintasan, Perkembangan Gamet, dan Bioaktivitas Ekstrak dan Fraksi Spons *Aaptos aaptos* yang Ditransplantasikan pada Perairan yang Berbeda [disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Harley, J.P. and L.M. Prescott. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology* 5 th edition. McGraw-Hill. New York.
- Haq, G.I., A. Permanasari, 4 halaman.
- Harper, M.K., T.S. Bugni, B.R. Copp, R.D. James, B.S. Lindsay, A.D. Richardson, P.C. Schnabel,

- D. Tasdemir, R.M. Van Wangoner, S.M Verbitski and C.M. Ireland, 2001, Introduction to the chemical ecology of marine natural product, *Marine Chemical Ecology* (James B. McClintock & Bill J. Baker Eds.) CRC Press USA. Pp 3-29.
- Haryani Y., Chainulfifah dan Rustiana. 2012. Fermentasi Karbohidrat oleh Isolat Salmonella spp. Dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Ind. Che.Acta* Vol. 3(1): 24
- Irianto, K., 2012, *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*, 76-77, Bandung, Yrama Wigya.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A., 2005, 4 halaman.
- Ismet, Meutia, S., 2007, Penapisan Senyawa Bioaktif Spons Aaptos Aaptos Dan Petrosia Sp. Dari Lokasi Yang Berbeda, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jawetz, E., J, Melnick dan Adelberg. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. EGC. Jakarta
- Kimball JW. 1999. *Biologi*. Edisi Kedua. Terjemahan: Soetarmi S, Sugiri N. Erlangga. Jakarta. Hlm. 897.
- Lee YK, Lee JH, Lee HK. 2001. Microbial Symbiosis in Marine Sponges. *Journal of Microbiology*. 39(4): 254-264.
- Lay, B.W. 2010. *Analisis Mikroba Di Laboratorium*. Rajawali Pers. Jakarta.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. *Biology of. Microorganism*. 13th ed. San Francisco: Pearson. P. 140
- Mochtar, Rustam. 2012. *Sinopsis Obstetri: Obstetri Fisiologi, Obstetri Patologi Edisi ketiga*. Jakarta: EGC.
- Munandar, Kukuh. (2016). *Pengenalan Laboratorium IPA-Biologi Sekolah*. Cetakan ke-1. Bandung : Refika Aditama.
- Muzakir dan Suparman. 2016. Strategy of Developing Tomini Bay or Economic Growth of Coastal Community in Central Sulawesi, *Journal of Economics and Policy*, Vol 9 (1) (2016): 96-110.
- Novel, S.S., Wulandari. P.A., Safitri. R., 2010. *Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Hal 89. Pastra, D. A., Melki, M., dan Surbakti, H. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis Aplysina sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Jurnal Maspari*, 77-82.
- Pita, L., Rix, L., Slaby, B. M., Franke, A., and Hentschel, U. 2018. The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Journal Microbiome*, 6(1), 1-18.
- Rizki, A. F.M, 2013. Skrining bakteri simbiosis spons asal perairan pulau polewali dan pulau sarappolompo sebagai penghasil Antibakteri terhadap bakteri patogen pada manusia dan ikan. Skripsi. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin Makassar
- Sastrwan, I Gade Anom Sunarta, I. N. (2014). Strategi Pengembangan Potensi Wisata Bahari di Pantai Crystal Bay Desa Sakti, Kec. Nusa Penida, Kab. Klungklung. *Destinasi Pariwisata*, 2, 98-114.
- Suwarso, S., Sadhotomo, B., & Wudianto, W. (2017). Perkembangan Perikanan Pelagis Kecil Di Teluk Tomini: Suatu Pendekatan ke Arah Manajemen yang Bertanggung jawab. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, 1(6), 233-244.
- Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., and Wagner, M. 2007. Sponge- associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Journal Microbiology and Molecular Biology*, 71 (2), 295-347.
- Waluyo, L. 2016. *Mikrobiologi Umum*. 5th edn. Edited by S. R. and A. H. 67 Riyantono. Malang: UMM.