

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN ALGA *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh SERTA IDENTIFIKASI SECARA BIOKIMIA.

Cicilia Kosasi¹⁾, Widya A. Lolo¹⁾, Sri Sedewi¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Algae are a place to live for various microorganisms' symbiosis with them, and some of them were known to be used as antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of associated bacteria isolates from Turbinaria ornata algae obtained from the Bay of Manado against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. In the course of testing the isolation and purification of symbiotic bacteria from Turbinaria ornata algae, then antibacterial activity was testing using agar diffusion method, then gram staining and biochemical tests were carried out including motility test, H₂S tests, carbohydrate fermentation test, citrate test, lysine test, indole test and catalase test. The result showed that there were 3 bacterial isolates, which had antibacterial activity in medium category against S.aureus and E.coli bacteria. Based on the results of biochemical identification, the isolates that have the greatest inhibitory power, they were thought to belong to genus Bacillus and the genus Yersinia.

Keywords : Antibacterial, Symbiotic bacteria, *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh.

ABSTRAK

Alga merupakan tempat hidup berbagai mikroorganisme yang bersimbiosis dengannya, dan beberapa dari spesies alga diketahui sering dimanfaatkan salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang berasosiasi dengan alga *Turbinaria ornata* yang diperoleh dari Teluk Manado terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dalam pengujian dilakukan isolasi dan purifikasi bakteri simbiosis dari alga *Turbinaria ornata*, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dan uji biokimia meliputi uji motilitas, uji H₂S, uji fermentasi karbohidrat, uji sitrat, uji lisin, uji indol dan uji katalase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 3 isolat bakteri yang mempunyai daya aktivitas antibakteri dalam kategori sedang terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan hasil identifikasi secara biokimia isolat yang mempunyai daya hambat paling besar diduga termasuk dalam genus *Bacillus* dan genus *Yersinia*.

Kata kunci : Antibakteri, Bakteri simbiosis, *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh.

PENDAHULUAN

Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah alga. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni (Satari, 1996). Obat baru yang berasal dari biota laut, saat ini menjadi perhatian para pengembangan peneliti dikarenakan tingginya keanekaragaman hayati laut serta keunikan struktur metabolit sekunder yang dihasilkannya. Senyawa bioaktif yang berasal dari laut dapat menjadi alternatif dalam pengembangan obat antibakteri yang baru (Harmawan *et al.*, 2012).

Turbinaria ornata (Turner) J. Agardh adalah salah satu jenis rumput laut cokelat yang menghasilkan alginat (Laksanawati *et al.*, 2017). Ekstrak rumput laut dari *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda dan menunjukkan metabolit sekunder yang bervariasi dalam melawan bakteri gram negative dan bakteri gram positif jika dibandingkan dengan standar ampicilin. Alga coklat seperti *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh aktif terhadap beberapa bakteri patogen antara lain seperti *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* dan *Staphylococcus aureus*. (Vijayabaskar *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri simbiosis isolat dari alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, untuk mengetahui spesies bakteri endofit yang memiliki daya antibakteri terbesar maka dilakukan analisis secara biokimia.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gunting, alat *Diving, cooling box, zipper bag*, kamera bawah laut (*Xiomi*), erlenmeyer (*Iwaki ST Pyrex*), gelas ukur mL (*Iwaki ST Pyrex*), tabung reaksi, raktabung reaksi, pipet tetes, timbangan analitik

(*ADAM*), lumpang dan alu, cawan petri (*Iwaki ST Pyrex*), jarum ose, pinset, *rotary shaker incubator (Infors HT)*, bunsen, lemari pendingin, *laminar air flow (Biotek)*, autoklaf (ALP), mikropipet (*Ecopipette*), tip, *L-glass*, jangka sorong, kertas label, plastik *wrap*, *aluminium foil*, tisu, kapas, kasa, mikroskop cahaya, kaca objek, alat fotografi.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, aquades, etanol 70%, etanol 95%, NaCl 0.9%, Natrium Hipoklorit (NaOCl) 5,25%, media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, media *Simmons citrate Agar*, media *Lysin Iron Agar*, media *Triple Sugar Iron Agar*, *paper disc* Kloramfenikol, kristal violet, lugol, larutan safranin, reagen *Covac's*, masker dan sarung tangan.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama ± 15 menit pinset, L-glass, dan jarum ose di bakar di atas api langsung (Pembakar spiritus) (Waluyo, 2014).

Pengambilan Sampel

Sampel alga diambil dari perairan Teluk Manado menggunakan alat bantu (Masker dan Snorkel). Sampel difoto dengan kamera bawah laut, diambil, lalu dimasukkan ke dalam *zipper bag*, kemudian dibawa langsung ke Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Farmasi dan untuk identifikasi sampel, sampel dibawa ke laboratorium Taksonomi Biologi Universitas Sam Ratulangi.

Pembuatan Media

1. Media Pertumbuhan

Media dibuat dengan menimbang sebanyak 6,16 gram NA kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 220 mL (28 gram/ 1000 mL). Selanjutnya, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate*. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu ±121°C. Media kemudian dituang kedalam 11 cawan petri masing-masing

sebanyak 20 mL dan untuk tabung reaksi (sebagai agar miring) dimasukkan pada 9 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL media NA. Media yang telah padat ditutup dengan kapas agar bebas dari kontaminan. Media ini digunakan untuk beberapa keperluan yaitu penanaman awal bakteri simbiosis dari sampel yang telah diencerkan secara berseri, isolasi bakteri, kultur *stock* isolat bakteri simbiosis endofit, dan pengujian aktivitas antibakteri (Volk dan wheeler, 1993).

2. Media Pembenuhan

Media dibuat dengan menimbang NB sebanyak 0,72 gram kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades hingga 90 mL (8 gram/ 1000 mL). Selanjutnya, dihomogenkan dengan magnetic stirrer diatas *hot plate*. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan hingga sedikit dingin. Media kemudian dituang ke dalam Erlenmeyer sebanyak 10 mL. Media ini digunakan untuk inokulasi bakteri simbiosis untuk pengujian aktivitas antibakteri (Hidayanti, 2004).

3. Isolasi Dan Purifikasi Bakteri Simbiosis

Penanaman bakteri simbiosis yang bersimbiosis dengan alga dilakukan dengan metode sebaran menurut Madigan (2012). 1 gram sampel alga yang telah disterilisasi permukaannya dihancurkan dengan cara digerus dengan lumpang dan alu sampai halus. Selanjutnya, kedalam 1 gram sampel ditambahkan NaCl sampai 10 mL yang akan digunakan untuk pengenceran bertingkat sehingga diperoleh pengenceran sampel sebesar $1 \cdot 10^{-0}$. Pengenceran bertingkat selanjutnya dilakukan untuk seri $1 \cdot 10^{-1}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-3}$ dan $1 \cdot 10^{-4}$. Dari masing-masing seri kemudian diambil 100 μ L dan disebarkan ke dalam cawan petri steril yang berisi media NA dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Koloni bakteri simbiosis yang tumbuh diamati warna, bentuk, elevasi, tepian dan ukurannya. Koloni-koloni bakteri dipisahkan dengan jarum ose berdasarkan perbedaan karakteristik makroskopik dan

mikroskopiknya pada media NA baru dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat yang telah murni diambil menggunakan jarum ose untuk dipindahkan ke media agar miring untuk mendapatkan isolat bakteri dengan membentuk garis zig-zag selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama $\pm 1 \times 24$ jam (Vandepitte, 2010).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan Larutan *Mc. Farland* 0.5

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,75% sebanyak 0,05 mL dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Victor, 1980).

2. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji berupa *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril kemudian disuspensikan kedalam tabung yang berisi 5 mL larutan NaCl 0.9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* 0.5. Suspensi bakteri kemudian dipipet sebanyak 100 μ L dan dituangkan media NA yang telah memadat (Ngajow *et al.*, 2013).

3. Penyiapan bakteri simbiosis

Satu ose isolat bakteri alga diinokulasi kedalam 10 mL media cair NB dan diinkubasi selama 24 jam dalam *Incubator* dengan suhu 37°C. Masing-masing koloni bakteri simbiosis dalam media cair kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifuge dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatant yang terbentuk diambil untuk pengujian aktivitas antibakteri (Hidayanti, 2004).

4. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan yaitu Metode Difusi (*Disc Diffusion Kirby and Bauer*). Pengujian aktivitas antimikroba ini cakram (*paper disc*) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 μ L pada tiap cakram. Diinokulasi suspensi bakteri uji diatas media yang telah memadat. Kertas cakram yang telah direndam dengan isolat bakteri alga diinokulasikan diatas media yang telah berisi

bakteri uji, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam (Fardiaz, 1987).

5. pengukuran zona hambat

Pengamatan dilakukan terhadap zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram setelah masa inkubasi yaitu 1x24 jam. Diameter zona bening ini kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 mm (Ortez, 2005). Diameter zona bening yang terukur dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan (Davis *et al*, 1971).

Uji Morfologi

Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan Gram. Biakan bakteri pada media miring diambil dengan menggunakan jarum ose, kemudian ditotol pada bagian tengah kaca objek sampai merata. Preparat selanjutnya difiksasi diatas lampu bunsen. Selanjutnya preparat diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit. Kristal violet dicuci pada air mengalir. Preparat kembali diwarnai dengan larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Larutan lugol dicuci dengan alkohol 96% dan dicuci pada air mengalir. Selanjutnya preparat diwarnai dengan safranin dan didiamkan selama 1 menit. Preparat dicuci pada air mengalir, dikeringkan dan diperiksa dengan mikroskop dengan menambahkan minyak imersi (Macfaddin, 2000).

Uji Fisiologi

Uji fisiologi dilakukan dengan uji motilitas yang bertujuan untuk mengetahui pergerakan bakteri uji. Prosedur kerja: media *nutrient agar* ditimbang sebanyak 0,58 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 21 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL kemudian didinginkan. Setelah memadat, kultur bakteri diinokulasikan dengan tusukan jarum ose sampai dasar media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila terlihat adanya pertumbuhan melebar dari bekas tusukan jarum ose (Talaro, 2008).

Uji Biokimia

1.Uji H₂S

Media *triple sugar iron agar* (TSIA) ditimbang sebanyak 4,55 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 70 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL dan dimiringkan sampai memadat pada kemiringan 30°. Setelah media memadat, secara aseptik isolat bakteri diinokulasikan dengan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan media dan kemudian digores pada bagian miring dari media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil positif bila terbentuk endapan berwarna hitam pada bagian bawah media yang berarti bakteri dapat membentuk H₂S (Lay, 1994).

2.Uji Fermentasi Karbohidrat

Media TSIA dibuat seperti pada uji H₂S. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL dan dimiringkan sampai memadat. Setelah media memadat, secara aseptik isolat bakteri diinokulasikan dengan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan media dan kemudian digores pada bagian miring dari media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil positif bila terjadi pembentukan asam dan pembentukan gas. Pembentukan asam terlihat sebagai perubahan warna substrat karbohidrat dari warna merah menjadi warna kuning. Pembentukan gas terjadi didasar media yang ditandai dengan adanya ruang kosong didasar media (Cappuccino dan Sherman, 1992).

3.Uji Sitrat

Media *Simmons's citrate agar* ditimbang sebanyak 0,50 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 21 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL dan dimiringkan sampai memadat pada kemiringan 30°. Setelah media memadat, secara aseptik isolat bakteri

diinokulasikan dengan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan media dan kemudian digores pada bagian miring dari media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil positif bila terjadi perubahan warna dari warna hijau tua menjadi warna biru (Cappuccino dan Sherman, 1992).

4.Uji Lisin

Media *lysine iron agar* ditimbang sebanyak 0,72 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 21 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL dan dimiringkan sampai memadat pada kemiringan 30° . Setelah media memadat, secara aseptik isolat bakteri diinokulasikan dengan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan media dan kemudian digores pada bagian miring dari media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil positif bila terjadi perubahan warna pada media menjadi warna lembayung (violet) (Cappuccino dan Sherman, 1992).

5.Uji Indol

Media dibuat dengan menimbang NA sebanyak 0,59 g dan dilarutkan dalam 21 mL aquadest. Media yang telah homogen disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan untuk mendinginkan pada suhu ruangan sampai beberapa saat. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 7 mL. Isolat diinokulasikan dengan koloni biakan yang berasal dari masing-masing agar miring dengan cara ditusukkan jarum sedalam $\frac{3}{4}$ bagian. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, dengan menambahkan 0,2-0,3 ml reagen *covac's*. Hasil positif apabila kultur bewarna merah pada saat penambahan reagen (Lay, 1994).

6.Uji Katalase

Media *nutrient broth* ditimbang sebanyak 0,17 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 21 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15

menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL. Kemudian secara aseptik isolat bakteri diinokulasi ke dalam media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Kedalam tabung reaksi ditambahkan 5 tetes H_2O_2 . Hasil positif bila terjadi pembentukan gelembung udara (Cappuccino dan Sherman, 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1.Determinasi Sampel

Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh yang telah diperoleh dari perairan Teluk Manado, Sulawesi Utara. Sampel dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Biologi Program Studi Biologi untuk mengetahui jenis sampel yang diambil. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh.

2.Isolasi dan Purifikasi Bakteri simbion

Pada penelitian ini, Setelah dilakukan penanaman bakteri yang berasosiasi dengan alga *Turbinaria ornata* pada media NA Plate, koloni bakteri yang berasosiasi dengan alga yang tumbuh diamati perbedaan karakteristik secara makroskopik. Kemudian pengamatan setelah dilakukan penanaman selama 1x24 jam, isolat bakteri dari alga *Turbinaria ornata* yang tumbuh terlihat seperti bercak-bercak halus yang berwarna putih. Selanjutnya pemurnian isolat bakteri yang tumbuh dilakukan dengan cara diinokulasikan kembali menggunakan jarum ose ke media NA yang baru dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu ruangan. Hal ini bertujuan untuk memisahkan koloni-koloni bakteri berdasarkan bentuk, warnah, dan ukuran agar didapatkan isolat bakteri dengan karakteristik secara *makroskopik* yang mempunyai morfologi yang sama sehingga dapat disebut sebagai isolat murni bakteri.

Kultur Cair

Pada penelitian ini, masing-masing isolat bakteri murni dikultur atau dibiakkan pada media cair menggunakan media NB (Nutrient Broth), dengan metode *shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm, hal ini

bertujuan agar semua nutrisi yang dikandung dalam medium dapat digunakan oleh bakteri secara optimal sebagai bahan untuk proses metabolismenya sehingga senyawa antibakteri dapat dihasilkan dengan optimal. Setelah dilakukan pengamatan, hasil dari pembiakkan bakteri pada media cair NB yang diinkubasi selama 1x24 jam, terlihat media berubah menjadi keruh, hasil dari pembiakkan ini yang nantinya akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pada pengujian ini digunakan kontrol positif dan negatif. Penggunaan kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk (Dwijendra, 2014). Sedangkan tujuan penggunaan kontrol negatif agar dapat mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan mikroba uji, sehingga dapat dipastikan bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak ialah senyawa yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut yang digunakan. Dalam penelitian ini, pelarut NaCl digunakan sebagai kontrol negatif.

Pada pengujian ini, isolat bakteri dari sampel *Turbinaria ornata* yang akan diuji aktivitas antibakteri ada 9 isolat bakteri, dari masing-masing isolat bakteri tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, dari pengulangan ini dilakukan untuk lebih mengakuratkan hasil yang akan diperoleh. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan bahwa adanya kepekaan bakteri terhadap isolat dari alga *Turbinaria ornata* dan antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif, dari beberapa isolat bakteri yang diuji menunjukkan terbentuknya daya hambat/zona bening disekeliling kertas cakram (*paper disc*) yang berukuran 5 mm. Pengamatan dilakukan setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Pengujian aktivitas antibakteri untuk setiap isolat bakteri dari sampel *Turbinaria ornata* menggunakan kertas cakram (*paper disc*), pengujian dilakukan terhadap bakteri uji *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil yang didapat dari pengukuran rata-rata diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram dari isolat bakteri sampel *Turbinaria*

ornata terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* ditunjukkan pada Tabel dibawah ini.

Tabel1. Hasil uji aktivitas antibakteri

Bakteri Uji	Diameter Zona Bening (mm)				
	K+	K-	C ₁	C ₂	C ₃
<i>S. aureus</i>	16,00	0	6,67	6,67	7,33
<i>E. coli</i>	15,00	0	6,67	6,33	6,67

Pada pengujian ini, kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol dimana antibiotik adalah suatu senyawa kimia yang dapat menghambat proses penting dalam kehidupan suatu mikroorganisme (Soekardjo dan Siswandono, 2000). Kloramfenikol atau Kloramisetin adalah antibiotik yang mempunyai spektrum luas yang dapat digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif. Kloramfenikol mempunyai khasiat bakterisid (Sumardjo, 2009). Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding antara antibakteri yang sudah terstandarisasi dengan sampel *Turbinaria ornata*. Kemudian kontrol negatif yang digunakan yaitu NaCl, fungsi dari kontrol negatif sendiri yaitu untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri, sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut yang digunakan melainkan berasal dari aktivitas senyawa yang terdapat dalam sampel *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh.

Uji morfologi, fisiologi dan uji biokimia

Pengujian ini, dilakukan dengan uji morfologi atau identifikasi bakteri yang diawali dengan pewarnaan Gram. Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri perlu dilakukan agar mempermudah proses identifikasi jenis dari isolate bakteri (Lenni et al.,2011). Uji pewarnaan Gram dilakukan pada setiap isolat bakteri dari sampel *Turbinaria ornata* yang memiliki daya hambat terbesar, dari beberapa isolat bakteri tersebut dilakukan pengujian morfologi atau pewarnaan gram yang bertujuan untuk mengetahui bentuk-bentuk bakteri (basil, kokus atau spiril), penentuan bakteri jenis

Gram positif atau Gram negatif pada saat pengamatan di mikroskop.

Hasil pengujian morfologi atau pewarnaan Gram pada setiap isolat bakteri bervariasi dimana untuk isolat bakteri diberikan kode C₁, C₂ dan C₃ dari ketiga isolat bakteri tersebut untuk kode isolat C₃ menunjukkan hasil yang berwarna ungu, dan untuk kode isolat C₁, C₂ menunjukkan hasil yang berwarna merah muda. Beberapa isolat bakteri yang diuji menunjukkan adanya bakteri gram negatif dan bakteri gram positif yang berperan dalam aktivitas antibakteri dari sampel *Turbinaria ornata*. Menurut Taslihan *et al.* (2001), bahwa warna bakteri terlihat merah, artinya bakteri bersifat gram negatif karena sel bakteri tidak menyerap cat utama (Gram's iodine) dengan kuat sehingga terbilas dengan alcohol dan terwarnai dengan cat pelawan. Dan bakteri gram positif pada pewarnaan gram menunjukkan hasil yang berwarna ungu atau biru karena kompleks zat warna Kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat aseton alcohol (Iay, 1994). Bakteri terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau basil, dan bentuk spiral (Dwidjoseputro, 1985), dalam penelitian ini ditemukan 1 bentuk bakteri yaitu bentuk batang atau basil. Hasilnya dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Uji Morfologi dan fisiologi

Kode Isolat	Uji Morfologi		Uji Fisiologi
	Pewarnaan Gram		Uji Motilitas
	Bentuk	Warna	
C ₁	Basil	Merah muda	-
C ₂	Basil	Merah muda	-
C ₃	Basil	Ungu	-

Data uji biokimia, uji morfologi dan uji fisiologi yang diperoleh dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology*. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia

	Uji Biokimia					
	Uji H ₂ S	Uji TSIA	Uji Sitrat	Uji Lisin	Uji Indol	Uji Katalase
	G L					
		l a				
		u k				
C ₁	-	+ - +	+	-	+	
C ₂	-	- + +	+	-	+	
C ₃	+	- + +	+	-	+	

Isolat bakteri dengan kode isolat C₁ dan C₂ menunjukkan bakteri yang diduga genus *Yersinia sp.*, dan untuk kode isolat C₃ diduga termasuk dalam genus *Bacillus sp.* Identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat-isolat yang diperoleh dengan berpedoman pada buku *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt et al, 1994).

Hasil pengujian ini, untuk uji katalase menunjukkan adanya hasil yang positif untuk ketiga isolat bakteri tersebut, uji katalase bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam mendegradasi hidrogen peroksida (H₂O₂) melalui produksi enzim. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa organisme yang bersangkutan menghasilkan enzim katalase yang mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Hadjoetomo, 1993).

Pada hasil uji sitrat dengan menggunakan media *Simmons Citrate* dimana media tersebut merupakan salah satu medium yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya karbon yang digunakan, ketiga isolat menunjukkan hasil yang positif. Menurut Sudarsono, (2008) hasil positif ini ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari warna hijau menjadi warna biru. Dan untuk uji lysin pada setiap isolat bakteri dengan

menggunakan media *Lysin Iron Agar* menunjukkan adanya hasil yang positif hasil positif terdapat pada media yang berwarna lembayung (ungu) (Sarah et al., 2014).

Pada pengujian fermentasi Karbohidrat dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media TSIA mengandung tiga macam gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. pada uji ini untuk kode isolat C₁ terjadi perubahan warna menjadi warna merah isolat ini mampu memfermentasikan glukosa, dan untuk kode isolat C₂ dan C₃ terjadi perubahan warna menjadi kuning kedua isolat ini mampu memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Menurut Sudarsono (2008), uji TSIA ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari suatu bakteri dalam memfermentasikan gula untuk menghasilkan asam atau gas. Warna merah pada agar menunjukkan reaksi basa, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Warna merah pada permukaan agar menunjukkan bahwa terjadinya fermentasi glukosa, dan warna kuning pada bagian permukaan dan bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa.

Hasil dari pengujian H₂S yaitu menggunakan media yang sama dengan pengujian Fermentasi Karbohidrat sebelumnya yaitu Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dimana media ini mengandung tiga macam gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Hasil pengujian dari ketiga isolat bakteri tersebut dengan kode isolat C₁ dan C₂ menunjukkan hasil yang negatif dan untuk isolat C₃ menunjukkan hasil yang positif dilihat dari penelitian menurut Sarah, (2014), hasil uji H₂S yang positif menunjukkan adanya endapan berwarna hitam pada dasar (butt) dari media yang digunakan.

Uji indol merupakan uji untuk menentukan kemampuan mikroorganisme dari sampel untuk menghasilkan indol dari triptofan. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang lazim terdapat dalam protein, sehingga asam amino dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein (Sarah et al., 2014). Hasil dari pengujian ini yaitu dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dari

ketiga isolat bakteri yang diuji menunjukkan hasil yang negatif karena tidak terbentuknya cincin berwarna merah setelah penambahan reagen kovac's, sedangkan hasil yang positif adalah sebaliknya.

Pengujian motilitas dari isolat bakteri dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA), Motilitas bakteri adalah suatu gerakan dari bakteri yang disebabkan adanya gerakan aktif atau pasif tujuan dari uji ini yaitu untuk mengetahui pergerakan bakteri uji pada media yang ditusuk, dari ketiga isolat bakteri dari sampel *Turbinaria ornata*, menunjukkan hasil yang negatif. Menurut penelitian dari Sarah et al., (2014) hasil yang negatif dimana pertumbuhan bakteri tidak menyebar dan hanya bertumbuh lurus di daerah tusukan sedangkan hasil yang positif menunjukkan pertumbuhan penyebaran bakteri baik disekitar daerah tusukan sampai pada permukaan media.

Identifikasi bakteri pada penelitian ini menggunakan perbandingan pada buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* dan diperoleh 2 genus bakteri yang diduga merupakan *Bacillus Sp.* dan *Yersinia Sp.*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil yang diperoleh untuk isolat bakteri dari alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh, memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Berdasarkan hasil identifikasi secara biokimia isolat C₃ diduga termasuk dalam genus *Bacillus sp.*, dan isolat C₁ dan C₂ diduga termasuk dalam genus *Yersinia sp.*

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada identifikasi isolat bakteri secara molekuler menggunakan Gen 16S rRNA.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwijoseputro. 1998. *Dasar- Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta..
- Cappucino, J. G., Sherman, N. 1998. *Microbiology: A laboratory Manual 5th Edition*. California: Benjamin/cummings Science Publishing. P.94.
- Davis, W. W., Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22:659-665.
- Dwijendra I. M., D.S Mewengkang., F.S Mehantow. 2014. Aktivitas Antibakteri dan Karakteristik Senyawa Fraksi Spons Lamellodysidea Herbaceae Yang Diperoleh Dari Teluk Manado. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4:2302-2493.
- Hadioetomo R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT. Gramedia, Jakarta.
- Harmawan, A., A, ridho., D, pringgenies. 2012. Uji Fitokimia dan Aktifitas Anti Bakteri Ekstrak Media Supernatan Bakteri Symbion Vibrio sp. Gastropoda Oliva vidua Terhadap Bakteri Multi Drug Resistant. *Universitas Diponegoro Kampus Tembalang*. Semarang.
- Hidayanti, M. 2004. *Aktivitas antibakteri rimpang temulawak (Curcuma xanthorrhiza roxb)*, Skripsi jurusan kimia, Institut pertanian bogor, Bogor. Hal: 6, 8-9, 21.
- Laksanawati, R., Ustadi., A. Husni. 2017. *pengembangan metode ekstraksi alginat dari rumput laut turbinaria ornate*.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di laboratorium.Edisi 1*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lenni, F., and Yekki Y. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 3:2.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., Vanda S.K. 2013. Pengaruh anntibakteri ekstrak kulit batang matoa (Pometia pinnata) terhadap bakteri Staphylococcus aureus secara invitro. *Jurnal Mipa Unsrat 2(2) 128-132*.
- Sarah M.P., Fatimawali., Aaltje M. 2014. Identifikasi Bkateri Resisten Merkuri Pada Urine Feses dan Kalkulus Gigi Pada Individu Di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-Biomedik*. 2(2): 532-540.
- Satari, R. 1996. *Potensi Pemanfaatan Rumput Laut Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, Jakarta. 152–177.
- Sudarsono A. 2008. Isolasi dan karakterisasi Bakteri pada ikan laut dalam Spesies ikan Gindara (Lepidocibium Flavobronneum). *Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor*.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Taslihan, A. 2001. *Cara Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Air, Ikan dan Udang di Air Payau*. BBPBAP. Jepara.
- Vijayabaskar P., V. Shiyamala. 2011. Antibacterial Activities of Brown Marine Algae (Sargassum wightii and Turbinaria ornata) from the Gulf of Mannar Biosphere Reserve.