

Karakteristik Ekstrak Bakteri Berasosiasi dengan *Eucheuma cottonii* Doty yang Memiliki Aktivitas Antimikroba

Characteristics of Antimicrobial Activity of Eucheuma cottonii Doty-Associated Bacteria Extracts

Risa Nofiani*¹, Kadarisno¹, Daryati², Ajuk Sapar¹

¹Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Tanjungpura

²Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat

Diterima 21 Agustus 2009/ Disetujui 3 November 2009

Abstract

Marine organisms-associated bacteria have a potential source of antimicrobial compounds. The aim of the research was to find out characteristics of antimicrobial activity of *E. cottonii* Doty-associated bacteria extracts and their genus from Lemukutan Island, Kalimantan Barat. Five of 11 isolates showed antimicrobial activity namely *Flavobacterium* sp. K08, *Alteromonas* sp. K09, *Bacillus* sp. K10, *Klebsiella* sp. K11, and *Pseudomonas* sp. K12. Furthermore, their secondary metabolites were extracted with methanol. The characteristic of the best bacteria extracts minimum inhibitory concentrations (MICs) for *Escherichia coli*, *Bacillus spaericus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Candida tropicalis* were obtained from bacteria extract of *Bacillus* sp. K10 (250 µg/disc), *Bacillus* sp. K10 (750 µg/disc), *Pseudomonas* sp. K12, (500 µg/disc), and *Alteromonas* sp. K09 (1,500 µg/disc) respectively.

Keywords: antimicrobial activity, *Alteromonas* sp., *E. cottonii* Doty, *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp.

PENDAHULUAN

Laut berpotensi besar menghasilkan senyawa kimia baru yang memiliki berbagai aktivitas biologis. Salah satu sumber penghasil senyawa kimia dari laut adalah bakteri laut. Umumnya bakteri laut yang hidup berasosiasi dengan organisme laut memiliki probabilitas lebih besar dalam menghasilkan senyawa dengan berbagai aktivitas biologis dari pada bakteri laut yang hidup secara bebas. Asosiasi bakteri dengan organisme laut dapat mempengaruhi proses metabolisme bakteri. Beberapa hal yang menyebabkan ini terjadi adalah kompetisi hidup yang tinggi antar bakteri dan keterbatasan nutrisi (Mearns-Spragg *et al.* 1998). Kondisi ini dapat menginduksi bakteri untuk menghasilkan senyawa dengan berbagai aktivitas biologis, misalnya antimikroba. Bakteri yang tidak menghasilkan senyawa antimikroba dapat menghasilkan senyawa antimikroba jika tumbuh pada organisme laut atau bersama dengan bakteri lain (Armstrong *et al.* 2001). Produksi senyawa antimikroba merupakan salah satu cara bakteri beradaptasi terhadap lingkungan dalam upaya bakteri mempertahankan diri dari bakteri lain dan inangnya.

* Korespondensi: Risa Nofiani, Jl. A. Yani, Pontianak, FMIPA Universitas Tanjungpura,
email: rnofiani@yahoo.com

Umumnya bakteri yang diisolasi dari organisme laut menghasilkan senyawa antimikroba. Bakteri *Pelagiobacter variabilis* dari alga *Pocokiella variegata* menghasilkan antibiotik *phenazine* baru, yaitu pelagiomisin yang dapat menghambat aktivitas bakteri Gram positif dan negatif (Imamura *et al.* 1997). Bakteri laut D2 telah diisolasi dari *Ciona intestinalis* diketahui menghasilkan senyawa ekstraseluler berupa protein baru, 190 kDa (James *et al.* 1996). Senyawa ini dapat membunuh larva invertebrata *Balamus amphitrite* dan *C. intestinalis* dan memiliki aktivitas antibakteri. Bakteri *Pseudoalteromonas ulvae* sp. dari alga *Ulva lactuca*. menghasilkan senyawa kimia yang menghambat pertumbuhan larva *B. amphitrite*, spora *U. lactuca*, dan alga merah *Polysiphonia* (Egan *et al.* 2001). Bakteri *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari alga merah *Ceratodictyon spongiosum* menghasilkan senyawa 2,4-diasetilfloroglusinol (Isnansetyo *et al.* 2001). Senyawa ini menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik ekstrak bakteri dan mengetahui genus bakteri yang memiliki aktivitas antimikroba dari alga laut *E. cotoniii* Doty dari perairan Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. Karakterisasi ekstrak bakteri yang dilakukan meliputi KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan daya kerja antimikroba.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Oktober 2006, bertempat di perairan Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat, Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Laboratorium Hama Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura, Laboratorium Kesehatan Pontianak dan Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu: agar (Fisons), air laut, akuades, antibiotik (kanamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, dan streptomisin), *bromthymol blue*, *decarboxylase broth base* Moeller (Sigma), dimetil-*p*-fenildiamin hidroklorida (Merck), DL-lisin, DL-arginin, DL-ornitin, etanol teknis, etanol 95% (Merck), glukosa (Merck), H₂O₂ (Merck), *Gram's iodine mordant*, *Hugh and Leifson's agar* (Sigma), *Kligler's iron agar* (KIA, Oxoid), *Kovac's reagent* (Merck), kristal violet (Merck), laktosa (Merck), maltosa (Merck), manitol (Merck),

MIO (Sigma), metanol teknis, NaCl (Merck), NaOH (Merck), *nutrient agar* (Oxoid), ZoBell 2216E, parafin, *peptone water* (Difco), *potato dextrose agar* (Oxoid), sakarosa (Merck), safranin (Merck), *Simmon's citrate agar* (Sigma), dan urea Christensen (Sigma). Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* (hadiah dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat, Pontianak). *Escherichia coli* DH5 α merupakan hadiah dari Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung. *Candida tropicalis* dan *Bacillus sphaericus* merupakan strain koleksi Risa Nofiani.

Peralatan yang digunakan adalah botol kaca steril cawan petri, inkubator, jangka sorong, *optical density* (OD₆₀₀), vorteks dan *rotary evaporator*.

Lingkup Penelitian

Sampling Alga *E. cottonii* Doty

Sampel *E. cottonii* Doty diperoleh pada tanggal 9 Maret 2006 dari perairan Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. Kondisi air laut pada saat sampling memiliki suhu 30 °C, salinitas 32‰, dan pH 7,2. Sampling dilakukan dengan memotong bagian alga, lalu dimasukkan ke dalam botol kaca steril yang berisi air laut. Botol kaca disimpan dalam kotak es dan dibawa ke laboratorium. Saat sampling alga, ditentukan suhu, pH, salinitas, dan kedalaman alga dari permukaan laut. Alga yang diperoleh selanjutnya dilakukan determinasi.

Penyiapan Sampel Alga Laut *E. cottonii* Doty

Sampel *E. cottonii* Doty dipotong dengan panjang 1-2 cm kemudian dibilas dua kali dengan air laut steril 25 mL. Potongan alga dimasukkan ke dalam 10 mL air laut steril dan dikocok dengan menggunakan alat vorteks selama 5 menit. Suspensi bakteri yang dihasilkan selanjutnya diencerkan secara berseri menggunakan air laut steril.

Isolasi Bakteri Berasosiasi dengan Alga Laut *E. cottonii* Doty

Isolasi bakteri berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty dilakukan dengan metode tuang pada media padat ZoBell 2216E yang dimodifikasi (Z). Media Z terdiri atas: pepton 5 g/L, ekstrak ragi 1 g/L, agar 15 g/L agar, dan air laut hingga 1 L. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri dari hasil pengenceran diinokulasi ke dalam cawan petri kemudian dituangkan media padat ZoBell 2216E (suhu \pm 50 °C) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari. Bakteri diisolasi berdasarkan perbedaan diameter, warna, bentuk, elevasi, dan tepian koloni yang tumbuh.

Penapisan Aktivitas Antimikroba

Penapisan aktivitas antimikroba isolat bakteri dilakukan pada berbagai media padat yaitu: media ZoBell Z, 1/2 Z, 1/10 Z (Z^{-1}), dan 1/10 Z yang diperkaya dengan glukosa 0,1% ($Z^{-1}G$). Penapisan aktivitas antimikroba dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri sehingga terbentuk lingkaran dengan diameter 5-6 mm pada media padat ZoBell 2216E dan diinkubasi pada temperatur 30 °C selama 48 jam. Selanjutnya cawan petri tersebut diinokulasi suspensi mikroba uji (500 μ L biakan mikroba uji umur 24 jam disuspensikan dalam 50 mL larutan NaCl 0,9% steril) dengan menggunakan alat semprot dan diinkubasi pada 30 °C selama 48 jam. Bakteri yang menunjukkan aktivitas antimikroba ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening diukur dari tepi koloni bakteri dengan tepi koloni mikroba uji. Alat ukur yang digunakan adalah jangka sorong dengan ketelitian 0,5 mm.

Ekstraksi Metabolit Sekunder Bakteri yang Memiliki Aktivitas Antimikroba

Sebanyak 200 μ L kultur bakteri yang memiliki aktivitas antimikroba dengan *optical density* (OD_{600}) = 0,6 disebarkan pada media padat sesuai dengan media hasil penapisan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari. Media padat selanjutnya dipotong (2x2 cm) dan direndam dengan metanol selama 48 jam. Ekstrak metanol disaring dan filtrat selanjutnya dipisahkan dari sisa media dengan sentrifugasi pada kecepatan 5.000 x g selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh akan digunakan untuk uji aktivitas antimikroba.

Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakteri

Uji aktivitas antimikroba ekstrak bakteri terhadap bakteri uji dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram (Suganda *et al.*, 2005). Kertas cakram dijenuhkan dengan ekstrak bakteri pada konsentrasi tertentu dan diletakkan di permukaan media *nutrient agar* (NA) yang telah diinokulasi dengan suspensi mikroba uji. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,5 mm.

Uji aktivitas antimikroba ekstrak bakteri terhadap jamur uji dilakukan seperti pada bakteri uji, tetapi media yang digunakan adalah media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Bakteri

Penentuan KHM ekstrak bakteri dilakukan dengan cara menjenuhkan kertas cakram dengan ekstrak bakteri pada berbagai konsentrasi. Selanjutnya kertas cakram diletakkan di permukaan media NA yang telah dioles mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Konsentrasi terendah ekstrak bakteri yang dapat menghambat mikroba uji ditetapkan sebagai KHM ekstrak bakteri. Penentuan KHM ekstrak bakteri untuk jamur uji dilakukan seperti pada penentuan KHM ekstrak bakteri untuk bakteri uji, tetapi media yang digunakan adalah media PDA dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam.

Uji Bakteriostatik/Fungistatik dan Bakteriosida/Fungisida

Uji bakteriostatik dan bakteriosida dilakukan dengan menggosokkan ose pada bagian zona hambat kemudian ose tersebut digosokkan ke media NA dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Jika pada media NA tumbuh bakteri uji maka diduga ekstrak metabolit sekunder bakteri tersebut bersifat bakteriostatik. Jika pada media NA tidak tumbuh bakteri uji maka diduga ekstrak metabolit sekunder bakteri tersebut bersifat bakteriosida.

Uji fungistatik dan fungisida dilakukan dengan menggosokkan ose pada bagian zona hambat kemudian ose tersebut digosokkan ke media PDA dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Jika pada media PDA tumbuh jamur uji maka diduga ekstrak metabolit sekunder bakteri tersebut bersifat fungistatik. Jika pada media PDA tidak tumbuh jamur uji maka diduga ekstrak metabolit sekunder bakteri tersebut bersifat fungisida.

Identifikasi Bakteri yang Memiliki Aktivitas Antimikroba

Identifikasi bakteri yang memiliki aktivitas antimikroba dilakukan dengan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Uji yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, uji fermentasi karbohidrat, uji pembentukan indol, uji produksi H₂S, uji penggunaan sitrat, uji urease, uji dekarboksilase, uji oksidasi-fermentasi, uji oksidase, uji katalase, dan uji KIA. Uji untuk pengaruh konsentrasi NaCl terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan pada media padat ZoBell 2216E dengan variasi konsentrasi NaCl (0,0-3,5 M).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengenceran sampel *E. cottonii* 10⁻³ menghasilkan 1,82 x 10⁵ CFU/mL (*colony forming unit*/mL). Berdasarkan perbedaan diameter, warna, bentuk, elevasi, dan tepian koloni bakteri diperoleh 11 isolat (Tabel 1). Selanjutnya 11 isolat dilakukan penapisan

aktivitas antimikroba dengan menggunakan 4 jenis media, yaitu: media Z, 1/2 Z, Z⁻¹, dan Z⁻¹G. Hasil penapisan menunjukkan bahwa 5 dari 11 isolat menunjukkan aktivitas antimikroba pada media Z⁻¹G (Tabel 2). Berdasarkan media yang digunakan ternyata 5 isolat memiliki aktivitas antimikroba pada media ZoBell 2216E miskin yang diperkaya dengan glukosa (Z⁻¹G). Glukosa pada media Z⁻¹G diduga berperan sebagai induser bakteri dalam menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba, meskipun glukosa merupakan prekursor metabolit primer.

Tabel 1. Ciri-Ciri Isolat Bakteri Berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty

Kode	Ciri-ciri Koloni				
	Diameter (mm)	Warna	Bentuk	Elevasi	Tepian
K01	0,5	Putih	Bundar	Cembung	Licin
K02	1,0	Putih susu	Bundar	Cembung	Licin
K03	1,0	Putih	Bundar	Seperti tetes	Licin
K04	<0,5	Putih susu	Bundar	Cembung	Licin
K06	1,5	Putih susu	Bundar	Seperti kawah	Licin
K07	2,0	Putih susu	Bundar	Cembung	Licin
K08	2,0	Putih susu	Bundar	Timbul	Licin
K09	1,5	Putih	Bundar	Timbul	Licin
K10	1,0	Putih	Bundar	Cembung	Licin
K11	1,0	Putih susu	Bundar	Timbul	Licin
K12	1,5	Putih susu	Bundar	Cembung	Licin

Tabel 2. Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty

Kode Bakteri	Aktivitas Antimikroba																			
	Media Z					Media 1/2 Z					Media 1/10 Z					Media 1/10ZG				
	EC	BS	SE	PS	CT	EC	BS	SE	PS	CT	EC	BS	SE	PS	CT	EC	BS	SE	PS	CT
K01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
K09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
K10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
K11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
K12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Keterangan: (+) positif, (-) negatif, SE: *S. epidermidis*, EC: *E. coli*, PA: *P. aeruginosa*, BS: *B. sphaericus*

Penambahan prekursor metabolit primer dapat meningkatkan metabolit sekunder (Barry and Wainwright 1997). Induksi prekursor metabolit primer yang digunakan adalah α -ketoglutarat, β -ketoglutarat, glukosa, dan oksaloasetat. Bakteri laut #J292/97 diinokulasi dalam berbagai media yaitu: Marine Broth Difco (MB), MB yang diencerkan 10X (MB 1:9), MB 1:9 yang disuplemen dengan 0,1% α -ketoglutarat, MB 1:9 yang disuplemen dengan 0,1% β -ketoglutarat, MB 1:9 yang disuplemen dengan 0,1% glukosa, MB 1:9 yang disuplemen dengan 0,1% oksaloasetat. Media pertumbuhan yang disuplemen dengan prekursor siklus TCA (*Tricarboxylic acid*) yaitu α -ketoglutarat dan oksaloasetat akan menginduksi senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba. *Pseudomonas fluorescens* HV37a mensintesis antibiotik dalam keberadaan glukosa (Gutterson *et al.*, 1988).

Konfirmasi aktivitas antimikroba untuk kelima isolat tersebut dilakukan dengan membuat ekstrak bakteri dan menguji aktivitas antimikroba. Hasilnya adalah aktivitas antimikroba kelima isolat tersebut sama dengan hasil penapisan aktivitas antimikroba (Tabel 3). Ekstrak bakteri K12 memiliki daya antibakteri paling kuat terhadap *S. epidermidis*

Tabel 3. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakteri Berasosiasi dengan *Eucheuma cottonii* Doty

Ekstrak Bakteri	Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/disk}$)	Diameter Hambat Rata-rata (mm) tiap Mikroba			
		<i>E. coli</i>	<i>B. spaericus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. tropicalis</i>
K08	1.700	-	-	11,75	-
K09	1.000	-	-	7,83	11,00*
K10	1.000	10,00	8,50	-	-
K11	1.000	-	-	9,50	-
K12	1.000	-	-	10,50	-

Keterangan: - = tidak diuji, * = konsentrasi ekstrak bakteri 2.000 $\mu\text{g/disk}$

Tabel 4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Bakteri Berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty

Ekstrak Bakteri	KHM Ekstrak Bakteri ($\mu\text{g/disk}$)			
	<i>E. coli</i>	<i>B. spaericus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. tropicalis</i>
K05	750	250	-	1.250
K08	-	-	1.250	-
K09	-	-	750	1.500
K10	250	750	-	-
K11	-	-	1.000	-
K12	-	-	500	-

Keterangan: - = tidak diuji

dibandingkan dengan ekstrak bakteri lain. Setiap 1.000 µg/disk ekstrak bakteri K12 dapat menghambat *S. epidermidis* dengan diameter hambat sebesar 10,50 mm (Tabel 3).

Nilai KHM ekstrak bakteri K12 terhadap *S. epidermidis* menunjukkan paling kecil dibandingkan dengan nilai KHM ekstrak bakteri lain yaitu 500 µg/disk (Tabel 4). Nilai KHM menunjukkan konsentrasi ekstrak terkecil yang masih menghambat mikroba uji. Jika nilai KHM makin kecil maka aktivitas antimikroba ekstrak bakteri tersebut makin besar.

Daya kerja antimikroba ekstrak bakteri berasosiasi dengan *E. cottonii* dapat diketahui melalui uji bakteriostatik/fungistatik dan bakteriosida/fungisida. Berdasarkan hasil uji bakteriostatik/fungistatik dan bakteriosida/fungisida ekstrak bakteri yang telah dilakukan, ekstrak bakteri K12 bersifat bakteriosida terhadap *S. epidermidis*. Ekstrak bakteri K05 dan K09 bersifat fungistatik terhadap *C. tropicalis*. Ekstrak bakteri lain bersifat bakteriostatik terhadap bakteri uji yang peka terhadap ekstrak bakteri tersebut (Tabel 5).

Hasil uji morfologi dan uji biokimia bakteri ditunjukkan pada Tabel 6. Berdasarkan uji morfologi dan uji biokimia yang telah dilakukan terhadap bakteri yang memiliki aktivitas antimikroba maka ditentukan genus bakteri tersebut. Hasil identifikasi yang dilakukan menurut sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* untuk isolat bakteri K08, K09, K10, K11, dan K12 diduga adalah *Flavobacterium* sp., *Alteromonas* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp., dan *Pseudomonas* sp. secara berturut-turut.

KESIMPULAN

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa antimikroba di laboratorium dipengaruhi oleh media. Lima dari 11 bakteri berasosiasi *E. Cottonii* Doty menunjukkan aktivitas antimikroba pada media Z¹G. Ekstrak metanol bakteri *Flavobacterium* sp. K08,

Tabel 5. Spektrum Kerja Antimikroba Ekstrak Bakteri berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty

Ekstrak Bakteri	Daya Kerja Ekstrak Bakteri			
	<i>E. coli</i>	<i>B. spaericus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. tropicalis</i>
K08	-	-	Bakteriostatik	-
K09	-	-	Bakteriostatik	Fungistatik
K10	Bakteriostatik	Bakteriostatik	-	-
K11	-	-	Bakteriostatik	-
K12	-	-	Bakteriosida	-

Keterangan: - = tidak diuji

Tabel 6. Karakteristik Isolat Bakteri Berasosiasi dengan *E. cottonii* Doty yang Memiliki Aktivitas Antimikroba

Karakteristik	Kode Bakteri				
	K08	K09	K10	K11	K12
Bentuk	Batang/ Basil	Batang/Basil	Batang/Basil	Batang/Basil	Batang/Basil
Pewarnaan	Gram Negatif				
Ukuran (µm)	0,7-1,0x3,0-4,0	0,7-1,1x2,1-4,0	0,9-1,1x4,1-6,0	0,7-1,1x1,5-2,8	0,8-1,1x2,5-3,5
Motilitas	Nonmotil	Motil	Motil	Nonmotil	Motil
Fermentasi :					
Glukosa	+	-	+	+, gas	+
Laktosa	-	-	+	+	-
Manitol	-	+/-	+	+	-
Maltosa	+	-	+	+	-
Sakarosa	+	-	+	+	-
Indol	-	-	-	-	-
Dekarboksilase:					
Lisin	-	-	-	+	-
Arginin	-	-	-	-	+
Ornitin	-	-	-	-	-
OF	-	-	-	F	O
KIA	K/K	K/-	A/A	K/A	K/K
Produksi H ₂ S	-	-	-	-	-
Penggunaan sitrat	-	-	-	+	+
Urease	+	-	-	+	+
Oksidase	+	+	-	-	+
Katalase	+	+	+	+	+
Toleransi NaCl	0,1-3,0 M	0,1-0,5M	0,05-1,5 M	0,1-2,5M	0,1-3,0M
NA	+	+	+	+	+
Mac Conkey Agar	-	-	-	+	+
Blood Agar	+	+	+	+	+
BHI	+	+	+	+	+
SS Agar	-	-	-	+	+

Keterangan: + : tes positif, - : tes negatif, K : basa, A : Asam, F : Fermentatif, O : oksidatif

Alteromonas sp. K09, *Bacillus* sp. K10, *Klebsiella* sp. K11, dan *Pseudomonas* sp. K12 menunjukkan tingkat aktivitas antimikroba relatif lemah untuk berbagai mikroba uji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini tidak akan terlaksana tanpa bantuan semua pihak, oleh karena itu kami mengucapkan terimakasih kepada Bapak Ir. Fajarianto, M.P. yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Armstrong E, Yan L, Boyd KG, Wright PC, Burgess JG. 2001. The Symbiotic Role of Marine Microbes on Living Surfaces. *Hydrobiologia* 461: 37-40.

- Barry KJ, Wainwright NR. 1997. Biosynthetic Induction of a Secondary Metabolites by a Marine Bacterium under Nutritional Stress: Potential Role of the Incomplete Oxidation of an Organic Acid. *Bioll Bull* 193:274-275.
- Cruger W, Cruger A. 1989. *Biotechnology: a text book of industrial microbiology*. Sunderland:Sinaver Associates.
- Egan S, Holmstrom C, Kjellberg S. 2001. *Pseudoalteromonas ulvae* sp. nov., a Bacterium with Antifouling Activites Isolated from the Surface of a Marine Alga. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:1499-1504.
- Gutterson N, Ziegle JS, Warren GW, Layton TJ. 1988. Genetic Determinants for Catabolite Induction of Antibiotic Biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* HV37a. *Journal Bacteriology* 170:380-385.
- Holt JH, Kreig NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* ed. 9. Maryland: Williams and Wilkins.
- Imamura N, Nishijima M, Takadera T, Adachi K. 1997. New Anticancer Antibiotics Pelagiomycins Produced by a New Marine Bacterium *Pelagibacter variabilis*. *Journal Antibiotic* 50(1):8-12.
- Isnansetyo A, Horikawa M, Kamei Y. 2001. *In Vitro* Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Activity of 2,4-diacetylphloroglucinol Produced by *Pseudomonas* sp. AMSN Isolated from a Marine Alga. *Antimicrob Chemother* 47:724-725.
- James SG, Holmstrom C, Kjelleberg S. 1996. Purification and Characterization of a Novel Antibacterial Protein from the Marine Bacterium D2. *Applied and Environmental Microbiology* 62(8):2783-2788.
- Johnson L F, Curl EA, Bond JH, Fribourg HA. 1960. *Methods and Studying: soil microflora-plants disease relationships*. America: Burgess Publishing Company.
- Mearns-Spragg A, Bregu M, Boyd KG and Burgess JG. 1998. Cross-species Induction and Enhancement of Antimicrobial Activity Produced by Epibiotic Bacteria from Marine Algae and Invertebrates, after Exposure to Terrestrial Bacteria. *Letter Applied Microbiology* 27:142-146.
- Suganda AG, Sukandar EY, Catarina E. 2005. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Beberapa Tumbuhan suku Malvaceae. *Acta Pharmaceutica Indonesia* 30(2):54-58.