

## **Bakteri Simbion Karang Porites dari Perairan Gunungkidul, Yogyakarta dan Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

**Rivan Novianto Madilana\*, Diah Permata Wijayanti, Agus Sabdono**

*Departemen Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Sudarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, 50275  
Email: rivannmadilana811@gmail.com*

### **Abstrak**

Porites merupakan genus karang yang memiliki persebaran luas di Indonesia, termasuk perairan Gunungkidul, Yogyakarta. Penelitian menunjukkan bahwa bakteri simbion karang Porites memiliki potensi antibakteri untuk menanggulangi bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri simbion karang Porites dari Perairan Gunungkidul Yogyakarta yang memiliki aktivitas antibakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri simbion diisolasi dari fragmen jaringan karang dengan pengenceran bertingkat, kemudian uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode overlay dan difusi paperdisk. Delapan dari 64 isolat aktif menghambat kedua bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Dua diantaranya merupakan isolat unggul yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling baik. Kedua isolat selanjutnya diidentifikasi karakteristik molekular DNA dengan sekuen gen 16S rRNA. Hasil identifikasi 16S rRNA menunjukkan isolat GKP1.4.3 memiliki kesamaan 99% dengan *Bacillus pumilus* strain NBRC 12092, dan isolat GKP3.2.2 memiliki kesamaan 99% dengan *Vibrio natriegens* strain NBRC 15636.

**Kata Kunci :** Bakteri simbion, Porites, Bakteri patogen, Antibakteri.

### **Abstract**

#### ***Porites Bacterial Symbiont from Gunungkidul Waters, Yogyakarta and the Antibacterial Activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli Pathogenic Bacteria***

*Porites is a coral which has distributed widely in Indonesia, including Gunungkidul Waters, Yogyakarta. Research has shown that Porites coral symbiont bacteria have antibacterial potency against pathogenic bacteria. This study aims to determine the type of Porites coral symbiont bacteria collected from the waters of Gunungkidul Yogyakarta which has antibacterial activity of S. aureus and E. coli. Bacteria symbionts were isolated from coral tissue fragments by serial dilution method, while antibacterial activity was performed by using overlay and paperdisk diffusion method. Eight of the 64 active isolates inhibited the growth of both pathogenic bacteria S. aureus and E. coli. Two of 8 isolates showed stronger antibacterial activity. The two isolates subsequently identified the molecular characteristics of DNA with the 16S rRNA gene sequence. The identification of 16S rRNA showed that GKP1.4.3 isolate had 99% similarity with Bacillus pumilus strain NBRC 12092, and GKP3.2.2 isolate had 99% similarity with Vibrio natriegens strain NBRC 15636.*

**Keywords:** Bacteria Symbionts, Porites, Pathogenic bacteria, Antibacterial.

### **PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara yang memiliki sumberdaya laut melimpah, salah satunya terumbu karang. Lima ratus sembilan puluh spesies dari 80 genus karang diperkirakan tersebar di Indonesia (Suharsono, 2008). Gunungkidul Yogyakarta memiliki kawasan perairan yang luas sebagai ekowisata laut, salah satunya Pantai Nglambor. Terumbu karang di Kawasan Pantai

Gunung Kidul diketahui memiliki persentase rata-rata tutupan karang berkisar 25,29% dengan komposisi penyusun didominasi oleh *Dead Coral* 44,3%, *Non Acropora* 23,08% (*coral massive* dan *coral encrusting*), *Acropora* 2,38%, dan *Algae* 0,76% (Maulana *et al.*, 2016).

Genus *Porites* merupakan salah satu genus karang yang mendominasi di kawasan perairan Gunungkidul. Menurut López-Pérez

\*Corresponding author  
buloma.undip@gmail.com

<http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma>

Diterima/Received : 28-12-2017  
Disetujui/Accepted : 01-03-2018

(2013), karang genus *Porites* mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Perubahan kondisi lingkungan membuat karang memproduksi senyawa aktif sebagai bentuk pertahanan diri (Legina, 2016). Senyawa aktif yang dihasilkan karang dapat dimanfaatkan dengan mengisolasi bakteri simbiotiknya untuk mencegah eksploitasi berlebihan. Menurut Pastra *et al.*, (2012) bahwa bakteri simbion memiliki senyawa aktif yang sama dengan inangnya.

Bakteri simbion karang *Porites* diketahui memiliki potensi sebagai antimikroba. Riyanti *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa bakteri dari karang *Porites* memiliki aktivitas antifungi terhadap *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. Sedangkan *P. compressa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* (Mohammadizadeh *et al.*, 2014). Penelitian lain menyebutkan bahwa bakteri simbion *P. lutea* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Bacillus subtilis* dan *S. lentus* (Radjasa *et al.*, 2008).

Senyawa antimikroba sangat dibutuhkan untuk menanggulangi patogen penyakit pada manusia. Bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik menjadi masalah besar bagi dunia kesehatan, diantaranya bakteri *Escherichia coli* dan *S. aureus* (Fair & Tor, 2014). Hasil survei kualitas air (SKA) di Daerah Istimewa Yogyakarta tahun 2015 melaporkan bahwa 80,9% air perpipaan (air ledeng) rumah tangga di Gunung Kidul terkontaminasi bakteri *E. coli*. Kontaminasi lainnya terjadi pada air tanah 89,8% dan 100% pada air lainnya seperti air penampungan hujan dan air kemasan dan isi ulang. Sedangkan Data WHO tahun 2014 menyebutkan infeksi *S. aureus* meningkat 80% (wilayah Afrika), 90% (wilayah Amerika), 60% (wilayah Eropa) dan 80% (Asia-Pasifik). Resistensi bakteri *E. coli* serta bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik mendorong untuk dikembangkan suatu antibakteri baru sebagai upaya menanggulangi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Raho & Abouni, 2015).

Metode molekular berbasis PCR 16 rDNA diharapkan memberikan gambaran tentang bakteri simbion karang untuk mengestimasi keanekaragaman genetik bakteri karang serta mengetahui hubungan kekerabatan filogenetik bakteri yang memiliki potensi antibakteri. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dan karakteristik bakteri simbion karang *Porites* yang

memiliki potensi antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

## MATERI DAN METODE

### *Pengambilan Sampel Karang Porites*

Sampel karang *Porites* diambil di Pantai Nglambor Gunungkidul Yogyakarta dengan menggunakan alat tatah, palu, dan skindive. Sampel karang *Porites* diambil dari tiga kedalaman yang berbeda yaitu 1, 2, dan 3 meter. Sampel karang diambil sebesar kurang lebih 2,5 cm dan dimasukkan ke dalam plastik ziplock berisi air laut dan oksigen kemudian disimpan dalam *cool box* untuk penyimpanan sementara dan dibawa ke laboratorium (Radjasa *et al.*, 2008). Isolasi, purifikasi, identifikasi morfologi, dan skrining bakteridilakukan di *Tropical Marine Biotechnology*, Laboratorium Terpadu, UNDIP. Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat dan purifikasi dilakukan dengan metode cawan gores (*streak plate*). Pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi warna, bentuk, elevasi, dan bentuk tepian koloni (margin).

### *Skrining Aktivitas Antibakteri*

Skrining bakteri dilakukan dengan 2 tahap, yaitu tahap pertama dengan metode *overlay* sebagai seleksi awal untuk mengetahui ada tidaknya potensi dengan terbentuk zona hambat (Radjasa, 2008). Tahap kedua yaitu uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi *paper disk* untuk mengetahui zona hambatnya dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (Sabdono & Radjasa, 2006).

Metode *overlay* dilakukan dengan menanam setiap satu ose isolat bakteri simbion kedalam cawan petri berisi media agar Zobell 2216E dengan membentuk menjadi bulatan kecil (*dotting*). Cawan petri masing-masing berisi 5-12 bulatan isolat bakteri. Cawan petri tersebut dibungkus dengan plastik wrap dan diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam. Media Zobell 2216E soft agar berisi suspensi bakteri patogen dituang ke dalam cawan petri yang berisi biakan bakteri simbion yang sudah diinkubasi. Cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 hari dan diamati respon perubahannya setiap 24 jam.

Bakteri simbion yang positif selanjutnya dilakukan uji konfirmasi menggunakan metode difusi agar dengan *paper disk* (Sabdono & Radjasa, 2006). Bakteri patogen ditanam pada media Zobell 2216E agar dengan metode goresan (*streak*). *Paper disk* steril diambil menggunakan pinset dan diletakkan di atas media Zobell 2216E

agar yang berisi sebaran bakteri patogen sesuai jumlah kuadran yang dibuat. Bakteri simbiosis yang sudah ditumbuhkan 1-2 hari pada media Zobell 2216E cair sebelumnya, masing-masing isolat diambil sebanyak 35 µL dan diteteskan di atas *paper disk* berdiameter 8mm. Cawan petri dibungkus dengan plastik wrap dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Zona hambat diamati setiap 24 jam sekali. Zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk* diukur diameter menggunakan jangka sorong dengan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh data kuantitatif dari hasil uji aktivitas antibakteri pada suhu 37°C. Isolat unggul yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling baik kemudian diidentifikasi karakteristik molekular DNA dengan sekuen gen 16S rRNA.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan metode *Chelex 100* (Walsh *et al.*, 2013). Isolat bakteri dikultur pada media Zobell 2216E agar secara penuh dan diinkubasi selama 1-2 hari untuk dipanen sel bakterinya. Sel bakteri dimasukkan ke dalam mikrotube, ditambah 100 µL Aquabides (ddH<sub>2</sub>O) dan 1 mL Saponin 0,5% dalam PBS, kemudian didiamkan selama satu malam pada suhu 40°C. Sampel bakteri yang ada di dalam mikrotube di-*centrifuge* dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit, kemudian dibuang supernatannya. Setelah itu ditambahkan 1 mL PBS dan *centrifuge* kembali lalu dibuang supernatannya untuk mencuci saponin. Menambahkan 100 µL Aquabides (ddH<sub>2</sub>O) dan 50 µL *Chelex 20%*. Kemudian direbus selama 10 menit pada suhu 90°C dan di-*vortex* sesekali setelah 5 menit, selanjutnya dilakukan *centrifuge* lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Konsentrasi DNA diukur dengan menggunakan Spektrofotometer NanoDrop 2000 (*Thermo Scientific*). Hasil ekstraksi DNA disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20°C.

### Amplifikasi PCR 16S rRNA

Amplifikasi PCR 16S rRNA merupakan metode standar untuk mempelajari filogenetik dan keanekaragaman mikroorganisme laut Radjasa dan Sabdono (2006). Primer yang digunakan untuk PCR 16s rDNA sesuai dengan Lane (1991), yaitu primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan primer spesifik eubacteria 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') yang ada di laboratorium *Tropical Marine Biotechnology*, Undip. Temperatur perlakuan yang digunakan

pada PCR ini adalah : tahap denaturasi awal (95°C selama 3 menit), denaturasi (95°C selama 1 menit), annealing (55°C selama 1 menit), dan extension (72°C selama 1 menit). Campuran produk PCR meliputi GoTaq®Green Master Mix Promega (12.5 µL), primer 27 F (1 µL), primer 1492 R (1 µL), template DNA (1 µL) and ddH<sub>2</sub>O (9.5 µL), sehingga total produk PCR yaitu 25 µL.

### Sekuensing DNA

Produk PCR kemudian dikirim dan dianalisis sekuen DNA di PT. *Genetika Science* (Jakarta, Indonesia) untuk PCR 16S rRNA. Produk PCR kemudian dilakukan dengan menggunakan koneksi internet melalui program pelacakan *database Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Hasil BLAST homologi dideposit ke GenBank untuk memperoleh nomer akses.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri simbiosis karang *Porites* diperoleh 64 isolat bakteri. Skrining bakteri diperoleh hasil sebanyak 27 isolat aktif terhadap bakteri patogen (Tabel 1). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan *paper disk*. Delapan isolat bakteri simbiosis membentuk zona hambat terhadap kedua bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Morfologi ke-8 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3. Dua isolat membentuk zona hambat terbesar seperti yang tersaji pada Gambar 1. Hasil identifikasi 16S rRNA menunjukkan isolat GKP1.4.3 memiliki kesamaan 99% dengan *Bacillus pumilus* strain NBRC 12092, dan isolat GKP3.2.2 memiliki kesamaan 99% dengan *Vibrio natriegens* strain NBRC 15636.

Isolat bakteri simbiosis diambil dari fragmen jaringan karang *Porites* dari Pantai Nglambor,

**Tabel 1.** Rincian Isolat Bakteri Aktif

No.	Patogen	Isolat Bakteri
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	11 isolat
2.	<i>Escherichia coli</i>	8 isolat
3.	<i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	8 isolat
Total Isolat Aktif		27 isolat

Gunung Kidul. Tujuan dilakukan isolasi pada fragmen jaringan adalah agar bakteri yang terdapat pada mucus, jaringan, dan skeleton karang dapat diisolasi. Menurut Rosenberget *al.*, (2007) bakteri dapat berkembang pada beberapa tempat di jaringan karang seperti lapisan lendir permukaan, jaringan gastrodermis, dan skeleton kalsium karbonat. Bagian jaringan yang berbeda memungkinkan ditumbuhi oleh bakteri yang berbeda pula (Sidharta, 2000).

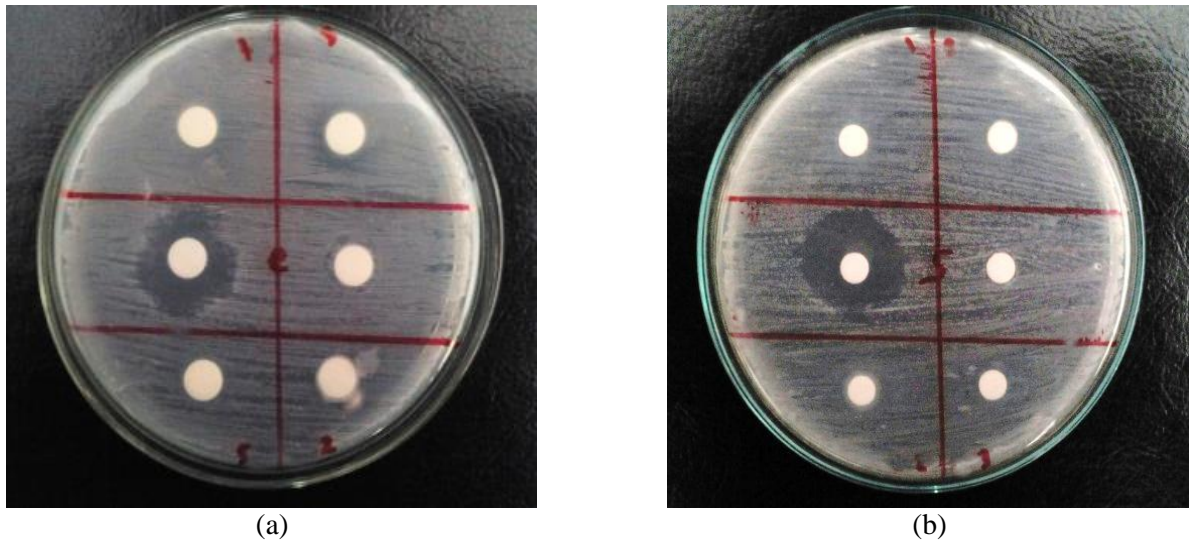
Dua isolat bakteri dari 64 isolat yang diperoleh memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter paling besar, yaitu isolat GKP1.4.3 dan GKP3.2.2. Kedua isolat tersebut diduga menghasilkan senyawa antibakteri berspektrum luas sebagai bentuk pertahanan diri terhadap bakteri patogen. Senyawa antibakteri dapat dibedakan berdasarkan spektrumnya, yaitu antibakteri *narrow spectrum* dan *broad spectrum*.

**Tabel 2.** Morfologi Isolat Bakteri Aktif

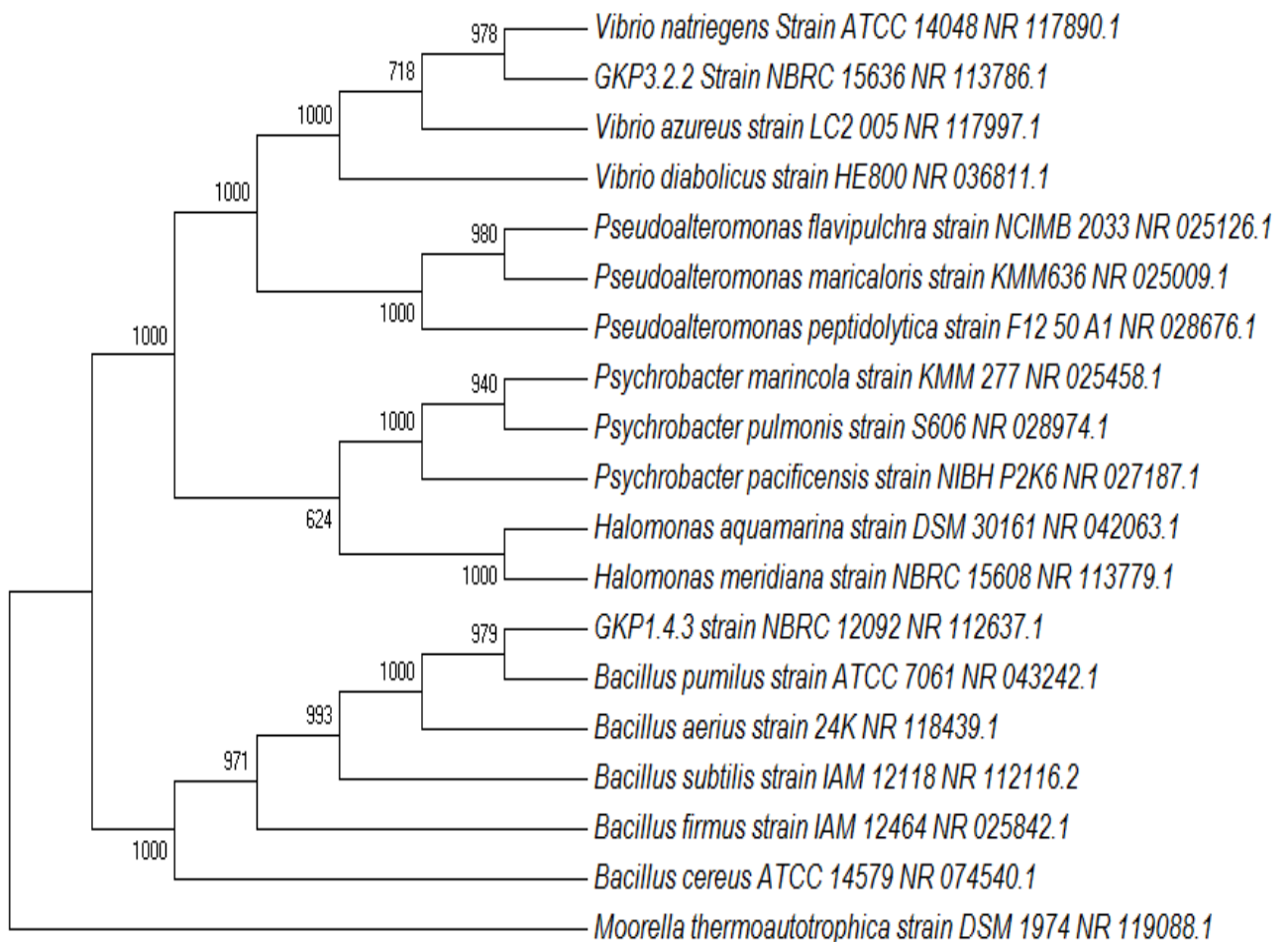
No.	Kode Isolat	Morfologi Koloni Bakteri				Uji Aktivitas	
		Bentuk	Permukaan	Margin	Warna	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>
1.	GKP1.2.3	Circular	Convex	Entire	Putih kecoklatan	+	+
2.	GKP1.3.3	Irregular	Flat	Undulate	Kekuningan	+	+
3.	GKP1.4.3	Irregular	Raised	undulate	Putih Susu	+	+
4.	GKP2.2.1	Circular	Flat	Curled	Bening	+	+
5.	GKP2.5.1	Irregular	Raised	undulate	Putih Susu	+	+
6.	GKP3.1.6	Irregular	Convex	Curled	Putih	+	+
7.	GKP3.2.2	Circular	Convex	Entire	Putih kecoklatan	+	+
8.	GKP3.4.2	Irregular	Raised	undulate	Putih Susu	+	+

**Tabel 3.** Besar Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri; GKP, Gunung Kidul Porites; angka menunjukkan kode isolat

Patogen	Isolat	Besar Zona Hambat (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	GKP1.2.3	10,29 ± 0,99
	GKP1.3.3	07,35 ± 0,40
	GKP1.4.3	15,32 ± 1,73
	GKP2.2.1	07,65 ± 1,14
	GKP2.5.1	09,53 ± 0,67
	GKP3.1.6	07,69 ± 0,31
	GKP3.2.2	10,26 ± 1,02
	GKP3.4.2	10,04 ± 1,25
<i>Escherichia coli</i>	GKP1.2.3	09,87 ± 0,91
	GKP1.3.3	07,28 ± 0,62
	GKP1.4.3	12,21 ± 1,14
	GKP2.2.1	07,43 ± 0,87
	GKP2.5.1	11,23 ± 0,73
	GKP3.1.6	10,50 ± 0,44
	GKP3.2.2	12,23 ± 0,22
	GKP3.4.2	08,98 ± 0,13



**Gambar 1.** a. Zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis karang *Porites* terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*. b. Zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis karang *Porites* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*.



**Gambar 2.** Pohon filogenetik pada isolat bakteri simbiosis karang *Porites*, Bakteri *Moorella thermoautotrophica* strain DSM 1974 NR 1190881 digunakan sebagai outgroup.

Antibakteri *narrow spectrum* (berspektrum sempit) memiliki kemampuan untuk menghambat atau membunuh satu golongan bakteri (bakteri gram positif atau gram negatif) saja, sedangkan antibakteri *broad spectrum* (berspektrum luas) memiliki kemampuan membunuh bakteri dari semua golongan, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif (Pratiwi, 2008). Kedua isolat tersebut aktif pada suhu inkubasi 37°C sehingga termasuk bakteri mesofilik. Berdasarkan identifikasi molekular 16S rRNA pada dua isolat bakteri simbiosis karang *Porites* diketahui bahwa isolat bakteri GKP1.4.3 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Bacillus pumilus* sebesar 99%, sedangkan isolat bakteri GKP3.2.2 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Vibrio natrieigenis* sebesar 99%.

*Bacillus* merupakan bakteri gram positif, memiliki sel berbentuk batang, membentuk endospora, dan hidup di berbagai habitat. Genus *Bacillus* terdistribusi secara luas pada habitat darat dan laut (Siefert *et al.*, 2000). Genus *Bacillus* yang diisolasi dari laut dapat memproduksi senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri, antijamur, antikanker, dan antialgal. *Bacillus pumilus* paling sering ditemukan berasosiasi dengan sponge, ascidia, *soft coral*, dan air laut dibandingkan spesies *Bacillus* yang lain (Ivanova *et al.*, 1999). *B. pumilus* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dan bakteri non motile, mampu menghidrolisis pectin, gelatin, casein, and tributyrin (Menon *et al.*, 2010). *B. pumilus* yang diisolasi dari moluska *Anadara broughtoni* has memiliki aktivitas tertinggi melawan mikroba patogen *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *Xantomonas* sp. Pv. Padrii, *E. faecium*, *A. niger*, *F. oxysporum*, dan *Citricoccus* sp (Romanenko *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan Bahry *et al.*, (2017) menemukan bakteri *B. pumilus* yang diisolasi dari gastropoda di Perairan Krakal Gunung Kidul, Yogyakarta memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

*Vibrio* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, termasuk  $\gamma$ -proteobacteria, bakteri motil, dan proses metabolisme kemoheterotrofik. Genus *Vibrio* sangat banyak ditemukan di permukaan makroorganisme laut, seperti karang, ikan, lamun, sponge, dan zooplankton, dimana mereka membentuk asosiasi komersial, simbiosis dan patogen (Thompson *et al.*, 2004). Genus *Vibrio* memproduksi senyawa untuk berbagai aktivitas biologis, seperti

antibiotik, antibakteri, antikanker, dan antivirus. Contoh Genus *Vibrio* yaitu *V. coralliitycus* MJ5 dan *V. parahaemolyticus* MJ11 yang diisolasi dari karang *Porites lutea* diketahui mampu menghambat bakteri patogen *B. subtilis* dan *S. lentus* (Radjasa *et al.*, 2008). Studi yang dilakukan Rypien *et al.*, (2010) menemukan bahwa bakteri *Vibrio* yang berasosiasi dengan karang menghasilkan senyawa antibakteri spektrum luas. Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh Genus *Vibrio* antara lain *Andrimid*, *Kahalalide F*, *Turbomycin*, *Vibrindole A*, dan *Unnarmicin A*. (Mansson *et al.*, 2011). *V. natrieigenis* merupakan bakteri halofilik yang umumnya ditemukan di pesisir, estuari, laut, dan sedimen dasar laut. *V. natrieigenis* secara umum adalah bakteri organoheterotrof karena mereka mampu memanfaatkan berbagai substrat organik sebagai sumber karbon dan energi (Wang *et al.*, 2013).

## KESIMPULAN

Isolasi bakteri simbiosis karang *Porites* diperoleh total isolat sebanyak 64 isolat bakteri. Dua diantaranya merupakan isolat unggul yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling baik terhadap kedua bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yaitu isolat GKP1.4.3 dan GKP3.2.2. Identifikasi molekular bakteri simbiosis karang *Porites* dengan kode isolat GKP1.4.3 memiliki homologi 99% dengan *Bacillus pumilus* dan isolat GKP3.2.2 memiliki homologi 99% dengan bakteri *Vibrio natrieigenis*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahry, M. S., Pringgenies, D., & Trianto, A. 2017. Molecular identification of marine symbiont bacteria of gastropods from the waters of the Krakal coast Yogyakarta and its potential as a Multi-Drug Resistant (MDR) antibacterial agent. In *AIP Conference Proceedings*. 1803( 1): 020019.
- Cipolla, A., Delbrassine, F., Da Lage, J.L., & Feller, G. 2012. Temperature adaptations in psychrophilic, mesophilic and thermophilic chloride-dependent alpha-amylases. *Biochimie*, 94(9):1943-1950.
- Fair, R.J., & Tor, Y. 2014. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, PMC-S14459.
- Hasil Survei Kualitas Air (SKA) di Daerah Istimewa Yogyakarta. 2015. Mewujudkan Aksesibilitas Air Minum dan Sanitasi yang

- Aman dan Berkelanjutan Bagi Semua. Badan Pusat Statistik, Yogyakarta.
- Ivanova, E.P., Vysotskii, M.V., Svetashev, V.I., Nedashkovskaya, O.I., Gorshkova, N.M., Mikhailov, V.V., Yumoto, N., Shigeri, Y., Taguchi, T. & Yoshikawa, S., 1999. Characterization of *Bacillus* strains of marine origin. *Int. Microbiology*, 2(4):267-271.
- Lane, D.J. 1991. 16S/32S rRNA Sequencing. In: Stackrbrandt E, Goodfellow M, Editors. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. New York, N. Y.: John Wiley and Sons, Inc. 115-176.
- Legina, R.S. 2016. Penggunaan Ekstrak Bakteri *Flavobacterium* sp. dari Karang *Acropora muricata* Sebagai Anti Bakteri Terhadap *Vibrio harveyi*. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin, Makassar, 42 hlm.
- López-Pérez, R.A. 2013. Species composition and morphologic variation of *Porites* in the Gulf of California. *Coral Reefs*. 32:867–878.
- Mansson, M., Gram, L., & Larsen, T. O. 2011. Production of bioactive secondary metabolites by marine *Vibrionaceae*. *Marine drugs*, 9(9):1440-1468.
- Maulana, H., Anggoro, S., & Yulianto, B. 2016. Kajian Kondisi dan Nilai Ekonomi Manfaat Ekosistem Terumbu Karang di Pantai Wediombo, Kabupaten Gunung Kidul, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Ilmu Lingkungan Undip*, 14(2):82-87.
- Menon, G., Mody, K., Keshri, J., & Jha, B. 2010. Isolation, purification, and characterization of haloalkaline xylanase from a marine *Bacillus pumilus* strain, GESF-1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(6):998-1005.
- Mohamadizadeh, F., Afkhami, M., Ehsanpour, M., & Bahri, A. H. 2014. Screening for antibacterial, antifungal and cytotoxic agents in three hard coral species from Persian Gulf. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 9(2):171-175.
- Pastra, D. A., & Surbakti, H. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Maspari Journal*, 4(1):77-82.
- Radjasa, O.K., Wiese, J., Sabdono, A., & Imhoff, J. F. 2008. Corals as source of bacteria with antimicrobial activity. *Journal of Coastal Development*, 11(3):121-130.
- Karna Radjasa, O., & Sabdono, A. 2003. Screening of secondary metabolite-producing bacteria associated with corals using 16S rDNA-based approach. *Journal of Coastal Development*, 7(1):11-19.
- Raho, G.B., & Abouni, B. 2015. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Most Common Source of Infection. In A. Méndez-Vilas (Ed.). *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. University of Sidi Bel abbes, Algeria, pp. 637-648.
- Riyanti, Nurkhasanah, W. & Radjasa O.K. 2016. Diversity and Antifungal Activity of Actinomycetes Symbiont Hard Coral Mucus of Genera *Goniopora* and *Porites*. *Makara Journal of Science*, 20(4):193-198.
- Romanenko, L.A., Uchino, M., Kalinovskaya, N. I., & Mikhailov, V.V. 2008. Isolation, phylogenetic analysis and screening of marine mollusc-associated bacteria for antimicrobial, hemolytic and surface activities. *Microbiological research*, 163(6): 633-644.
- Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., & Zilber-Rosenberg, I. 2007. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5):355-362.
- Rypien, K.L., Ward, J.R. & Azam, F. 2010. Antagonistic Interactions Among Coral Associated Bacteria. *J. Environ Microbiol.* 12: 28-39.
- Sabdono, A. & Radjasa, O.K. 2006. Anti-Bacterial Property of Coral-Associated Bacterium *Bacillus* sp. Againsts Coral Pathogenic Black Band Disease (BBD). *Journal of Coastal Development*, 9(3):175-182.
- Siefert, J.L., Larios-Sanz, M., Nakamura, L.K., Slepecky, R.A., Paul, J.H., Moore, E.R., Fox, G.E. & Jurtschuk Jr, P., 2000. Phylogeny of Marine *Bacillus* Isolates from the Gulf of Mexico. *Current Microbiology An International Journal*. 41(2000):84–88.
- Sidharta, B.R. 2000. Pengantar Mikrobiologi Kelautan. Universitas Atmajaya Yogyakarta. 122 hlm.
- Suharsono. 2008. Jenis-Jenis Karang yang Umum Dijumpai di Perairan Indonesia. Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta, 115 hlm.
- Thompson, F.L., Iida, T. & Swings, J. 2004. Biodiversity of *Vibriosis*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 68(3):403-431.

Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi, R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4): 506-513.

Wang, Z., Lin, B., Hervey, W. J., & Vora, G. J. 2013. Draft genome sequence of the fast-growing marine bacterium *Vibrio natriegens* strain ATCC 14048. *Genome announcements*, 1(4):e00589-13.