

Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba

Hermawaty Abubakar*¹, Aris Tri Wahyudi², Munti Yuhana³

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Papua, Jl. Gunung Salju, Amban, Manokwari 98314
e-mail: emma_haliclona@yahoo.com

²Departemen Biologi FMIPA IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga Bogor

³Departemen Budidaya Perikanan IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga Bogor

Abstrak

Organisme bentik laut seperti spons, seringkali hidup berasosiasi dengan bakteri yang menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antagonis isolat-isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. terhadap beberapa bakteri patogen, dengan metode skrining secara kualitatif. Sebanyak 32 (45,71%) dan 20 (29,41%) isolat yang berasal dari bagian mesohyl dan permukaan *Jaspis* sp. menunjukkan kemampuan antimikroba, karena mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *EPEC K-11*, *Candida albicans*, and *C. tropicalis*. Uji fenotipik dilakukan pada beberapa isolat dengan aktivitas antimikroba terbaik, yaitu SAB E-8, SAB E-33, SAB E-35, SAB E-38, SAB E-40 dan SAB S-43. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan isolat SAB E-8, SAB E-35, and SAB E-40 adalah Gram negatif, sedangkan isolat SAB E-33, SAB E-38, and SAB S-43 adalah gram positif yang dilanjutkan dengan identifikasi parsial (pengecatan gram dan uji katalase) untuk kelompok *Bacillus*.

Kata kunci: Bakteri, Asosiasi, *Jaspis* sp., antimikroba

Abstract

Living benthic marine organisms such as sponges are frequently associated with as bacteria that may be produce antimicrobial compounds. This study aims to determine antagonistic of bacterial isolates that associated sponge *Jaspis* sp., with a qualitative screening method. Screening of bacteria from marine sponge *Jaspis* sp. which have bility to produce antibacterial substances was investigated. There are 32 (45,71%) and 20 (29,41%) isolates from mesohyl and surface sponge respectively. Those isolated bacterial showed the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *EPEC K-11*, *Candida albicans*, and *C. tropicalis*. However, use of a few additional simple phenotypic tests for those isolate can be used to differentiate among isolates. The simple phenotypic test divided two ways based on staining gram. Gram negative bacteria were desingned SAB E-8, SAB E-35, and SAB E-40 and gram positive bacteria were desingned SAB E-33, SAB E-38, and SAB S-43. Parsial identification that directed to *Bacillus* was used for positive gram bacteria, involve gram staining, endospora staining and katalase test.

Key words: Bacteria, Assosiation, *Jaspis* sp, antimicrobe

Pendahuluan

Mikroorganisme laut merupakan sumber kandungan senyawa bioaktif baru yang banyak menjadi perhatian sekarang ini. Bentuk pertumbuhan bakteri pada perairan laut yang miskin nutrisi, banyak dijumpai dengan cara hidup berasosiasi dengan berbagai organisme laut bentik, seperti spons dan karang. Spons merupakan biota laut yang tersebar pada daerah perairan pantai yang dangkal hingga kedalaman 5,5 km. Tubuh hewan ini terdiri dari jaringan rangka yang disebut spikula. Spikula tersebut mengandung senyawa kimia yaitu kalsium, karbonat, silika, serat kolagen dan serat spongin yang lentur

(Castro dan Huber, 2005).

Spons adalah hewan berpori yang termasuk *filter feeder* yaitu hewan yang memiliki cara makan dengan menyaring air laut yang mengandung makanan melalui pori-pori (ostium). Makanan porifera berupa mikroorganisme atau sisa organisme yang telah mati yang berada di kolom air. Menurut Taylor et al. (2007), selain dijadikan makanan, mikroorganisme juga dijadikan simbiosis dari spons karena mikroorganisme memakai tubuh sponge yang berpori-pori sebagai inangnya untuk tempat hidup dan perlindungan. Hal ini

dapat dilihat dari asosiasi antara spons dengan bakteri, dimana bakteri dapat memberikan kontribusi untuk pertahanan inangnya dengan eksresi antibiotik dan substansi bioaktif lainnya. Organisme laut yang sesil seperti spons diperkirakan sangat bergantung pada mekanisme pertahanan kimia untuk melawan hewan-hewan predator dan perlekatan dari mikroorganisme patogenik.

Vibrio spp. yang berasosiasi dengan spons *Dysidea* sp. menunjukkan adanya sintesis cytotoksik dan antibakteri tetrabromodiphenyl eter demikian pula pada asosiasi antara *Micrococcus* dengan *Tedania ignis* ditemukan adanya aktifitas antimikroba (Kanagasabhapathy et al., 2005). Hasil penelitian Kim et al. (2006), Montalvo et al. (2005), dan Zhang et al. (2006) menyebutkan Actinomyetes yang bersimbiosis dengan spons *Pseudoceratina clavalata*, *Xestospongia* spp., *Hymeniacidon perlevis* dan *Craniella australiensis* juga menunjukkan adanya aktifitas antimikrobal.

Penelitian ini merupakan salah satu upaya untuk mengetahui keberadaan dan potensi bakteri yang diisolasi dari spons *Jaspis* sp. dalam menghambat pertumbuhan beberapa bakteri dan khamir patogen. Permasalahan kesehatan yang semakin kompleks memungkinkan tingkat mikroba patogen juga semakin meningkat. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan dosis serta kurangnya pengetahuan dalam bidang kesehatan memicu timbulnya berbagai mikroba patogen menjadi resisten terhadap antibiotik. Penyebaran spons *Jaspis* sp. di perairan kepulauan Raja Ampat cukup luas sehingga dapat dijadikan potensi sumber bioaktif baru. Selain itu Rachid et al. (2006) berhasil mengisolasi senyawa bioaktif deltaproteobakteri yaitu *Chondromyces crocatus* yang memiliki struktur kimia yang sama dengan Jaspamide yang dihasilkan oleh spons *Jaspis* sp. (Zampella et al., 1999).

Eksplorasi spons sebagai penghasil senyawa bioaktif juga telah banyak dipublikasikan tetapi penggunaan produk alami laut yang bersifat antibiotik dan antifungi sebagai hasil metabolit sekunder dari bakteri yang bersimbiosis dengan spons, lebih menguntungkan dibandingkan dengan mengisolasi dari inangnya. Pertumbuhan spons yang relatif lambat, selanjutnya membawa implikasi pada keterbatasan pasokan biomassa untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekundernya. Penggunaan bakteri yang hidupnya berasosiasi dengan spons dalam bentuk simbiosis lebih baik karena dapat dimurnikan dan dikultur dalam skala laboratorium sehingga tidak perlu mengoleksinya dari alam, dapat diperbanyak dalam waktu yang cepat dan mudah dimanipulasi dengan menggunakan teknologi molekuler.

Materi dan Metode

Pengambilan sampel

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2008 sampai Januari 2009. Materi berupa spons *Jaspis* sp. berasal dari Perairan sebelah Barat Pulau Waigeo, kabupaten Raja Ampat, Papua Barat, yang diambil pada kedalaman ± 10 meter dengan menggunakan alat bantu snorkel dan masker. Pengambilan sampel ini dilakukan secara purposif, yaitu dengan menyusuri dasar laut. Sampel diambil menggunakan pisau steri dengan ukuran panjang sampel $\pm 5-10$ cm dan merupakan sampel yang berwarna cerah tanpa adanya tanda kerusakan pada jaringan. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam plastik sampel (Whirl-Pak, Nasco, USA) yang telah diisi oksigen murni, selanjutnya ditempatkan dalam cool box untuk analisis mikrobiologis di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, Unipa.

Isolasi bakteri dari sampel spons

Permukaan sampel spons disemprot air laut steril dengan perbandingan ukuran spons $1 \text{ cm}^2 : 5 \text{ ml}$ air laut steril, sehingga hanya bakteri dengan daya gabung yang kuat saja yang akan tersampling. Bagian mesohil diambil dengan ukuran $\pm 1 \times 1 \text{ cm}$, digerus dan diencerkan dengan Phospat Buffer Saline (PBS) steril dengan perbandingan 1:1 (Kim et al., 2006). Isolasi bakteri dari permukaan luar menggunakan swab steril (Wahl et al., 1994), yang diusapkan dengan satu arah pada permukaan luar spons. Swab steril yang telah diusapkan pada permukaan sampel dimasukkan ke dalam tabung pengenceran yang berisi PBS steril dan divorteks. Hasil pengenceran disebar ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Sea Water Complit* (SWC) dengan komposisi 1 liter media terdiri dari 5 gr/l *bacto pepton*, 1 gr/l *yeast extract* dan 3 ml/l *glycerol*, dan diinkubasi pada suhu 26°C selama 24-36 jam dan diamati pertumbuhan koloni bakterinya. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan berdasarkan warna, ukuran dan bentuk koloni, serta dimurnikan dengan menggunakan media yang sama.

Pengujian aktivitas antagonis bakteri dan khamir patogen

Pengujian aktivitas antagonis terhadap bakteri dan khamir patogen dilakukan secara kualitatif (modifikasi Marinho et al., 2009), dengan menggores isolat pada permukaan media yang telah disebar dengan bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan terdiri dari bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* (koleksi laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi IPB), EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) K-11 (koleksi Dr. dr. Sri Budiarti-Departemen Biologi IPB), *Vibrio*

harveyi patogen udang (koleksi Dr. Widanarni-Departemen Budidaya Perikanan IPB), *Pseudomonas aerogenosa* patogen manusia (koleksi laboratorium Bioteknologi PAU-IPB) serta bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* patogen manusia (koleksi laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi IPB), dan *S. aureus* (koleksi laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi IPB). Pengujian aktivitas antikhmir menggunakan khamir uji *Candida albicans* dan *C. tropicalis* (koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia) yang ditumbuhkan pada media Potato Dextrose Agar (PDA). Aktivitas antagonis terhadap bakteri dan khamir diindikasikan dengan terbentuknya zona jernih disekitar koloni isolat murni.

Pewarnaan gram, spora dan uji fisiologis

Karakterisasi dilakukan pada lima isolat terbaik, dimana pemilihan lima isolat terbaik didasarkan pada aktivitas antagonis yang ditunjukkan oleh isolat SAB E-8, SAB E-35, SAB E-38, SAB E-40 dan SAB S- 43. Kelima isolat tersebut merupakan isolat terbaik karena mampu menghambat minimal lima mikroba target dengan kemampuan sedang hingga baik. Karakter morfologi dan fisiologis meliputi pengecatan Gram, spora dan uji Fisiologis menggunakan Identification strips (Kit Microgen Bioproducts GN ID-A dan GN ID-B).

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini diperoleh 138 isolat hasil isolasi bakteri yang memiliki potensi antimikrob dari spons *Jaspis* sp., yaitu 70 isolat yang diisolasi dari bagian endofit dan 68 isolat dari bagian permukaan. Bakteri yang berasosiasi dengan spons tersebut dapat berasal dari lingkungan perairan dimana spons berada atau merupakan mikrobial simbiosis spons pada saat masih tahap larva. Bakteri sebagai simbiosis dari spons dapat berperan sebagai sumber makanan, patogen atau parasit dan sebagai simbiosis mutualistik. Bentuk mutualisme antara bakteri dan spons ditunjukkan dengan adanya produksi senyawa antimikroba oleh bakteri *Vibrio* sp. yang berasosiasi dengan spons *Hyatella* sp. (Miyashiro & Ikegami, 1994). Isolat bakteri dengan aktivitas antimikroba yang berada pada bagian permukaan dan mesohyl (endofit) diduga adalah bakteri yang memiliki bentuk asosiasi dengan spons *Jaspis* sp. Bentuk asosiasi antara spons dan bakteri dapat terjadi dengan dua cara yaitu transmisi secara horizontal dan vertikal. Transmisi horizontal merupakan bentuk asosiasi spons dengan bakteri yang berada disekitar habitat spons akibat proses *filter feeding*. Transmisi vertikal adalah bentuk asosiasi antara bakteri dan spons saat spons berada

pada tahap larva. Mekanisme vertikal transmisi diawali saat bakteri mulai berpenetrasi ke dalam oocytes melalui endositosis, saat terjadi pembelahan bakteri akan berada antara blastomer atau di dalam vakuola. Pada tahap blastula semua bakteri akan dibawah ke blastocoel, selanjutnya bakteri simbiosis akan berada pada bagian intraseluler pada tahap larva dan tahap metamorfosis (Ereskovly et al., 2005). Isolat bakteri yang berasal dari permukaan dan memiliki aktivitas antimikrob diduga adalah bakteri yang memiliki kemampuan untuk melindungi spons dari patogen, predator dan *biofouler*. Menurut Osinga et al. (2001), bakteri simbiosis pada spons berpotensi untuk menghasilkan produk senyawa kimia seperti antibiotik dan antifungal yang dapat menekan predasi dan terjadinya *fouling*.

Penapisan isolat penghasil senyawa bioaktif (antibakteri dan antifungi) dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan dua kelompok mikroorganisme uniseluler yaitu bakteri (prokariotik) dan khamir (eukariotik). Kedua kelompok mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri dan khamir yang bersifat patogen. Indikator besarnya zona hambatan yang dihasilkan oleh isolat penghasil antimikrob dan hasil uji aktivitas antibakteri dan antikhmir lima isolat bakteri terbaik yang merupakan penapisan awal dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pengujian antimikroba, 32 (45,71%) dari total isolat bakteri endofit dan 20 (29,41%) isolat bakteri permukaan spons memiliki aktivitas antimikrob. Isolat bakteri yang berasal dari mesohyl *Aplysina aerophoba*, menunjukkan sekitar 11% dari total 238 isolat mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri target (Hentschel et al., 2001). Isolat bakteri yang berasal dari bagian endofit spons *Jaspis* sp. mempunyai aktivitas antimikrob yang lebih baik dibandingkan isolat bakteri yang diisolasi dari permukaan. Menurut Magnino et al. (1999) bakteri simbiosis yang berasal dari bagian endofit yaitu mesohyl umumnya memiliki populasi yang berlimpah dan merupakan mikroba yang spesifik dari spons inangnya karena sebagian besar dari bakteri endofit berasosiasi dengan spons secara transmisi vertikal. Sekitar 75% kelompok bakteri dijumpai pada bagian mesohyl spons antara lain yaitu bakteri heterotropik, bakteri fotosintesis seperti cyanobakteria, dan bakteri non fotosintesis seperti bakteri sulfur. Ketersediaan jumlah dan komponen nutrisi yang lebih bervariasi diduga juga merupakan salah satu faktor mengapa populasi bakteri endofit lebih banyak dibandingkan yang berasal dari permukaan. Populasi bakteri endofit yang lebih heterogen memicu terjadinya kompetisi diantara kelompok bakteri yang terdapat pada bagian endofit spons, hal ini menyebabkan bakteri endofit memiliki karakteristik antimikrobial yang berspektrum

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri dan antikhmir isolat-isolat bakteri asal endofit *Jaspis* sp.

No	Isolat	Bakteri Uji					Khamir Uji			
		Sa	Sa*	Vh*	Ec	EPEC	Ps*	Cal	Ctro	
1	SAB E-8	++	++	++	+	+	+++	+	+	
2	SAB E-35	+++	++	++	+	++	+++	++	++	
3	SAB E-38	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	
4	SAB E-40	++	++	++	++	++	+++	+++	+	
5	SAB S-43	+++	-	++	+	+	+++	-	-	

Sa :*Staphylococcus aureus*; Sa* :*Staphylococcus aureus*; Vh#: *Vibrio harveyii*; Ec :*Escherichia coli*; EPEC* K-11 :*Escherichia coli*; Pa* :*Pseudomonas aeruginosa*; Cal* :*Candida albicans* ; Ctro* :*Candida tropicalis*; *) : Patogen manusia; #) : Patogen udang; + :1 – 5 mm; ++ :6 – 10 mm ; +++ :11 – 15 mm; - : Tidak dihasilkan senyawa antimikrob.

Tabel 2. Uji Fisiologis menggunakan Identification Strip (Kit Microgen Bioproducts GN ID-A dan ID-B)

No	Isolat	GN ID-A												
		Lys	Orn	H2S	Glu	Man	Xyl	O.N.P.G	Ind	Ure	VP	Cit	TDA	Nit
1	SABH08	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
2	SABH35	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
3	SABH38	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
4	SABH40	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
5	SABS43	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+

Ket: Lys=Lysin; Orn=Ornitin; H2S=Hydrogen Sulfida; Glu=Glukosa; Man=Manitol; Xyl=Xylose; O.N.P.G= ; Ind=Indole; Ure=Urea; VP=Voges Prouskauer; Cit=Citrat; TDA= ; Nit=Nitrat.

No	Isolat	GN ID-B												
		Gel	Mal	Ino	Sor	Rham	Suc	Lac	Ara	Ado	Raff	Sal	Arg 24	Arg 48
1	SABH08	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
2	SABH35	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
3	SABH38	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-
4	SABH40	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-
5	SABS43	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-

Ket: Gel=Gelatin; Mal=Malonate; Ino=Inositol; Sor=Sorbitol; Rham=Rhamnose; Suc=Sucrose; Lac=Lactase; Ara=Arabinosa; Ado=Adonitol; Raff=Raffinose; Sal=Salicin; Arg 24= Arginin inkubasi 24 jam; Arg 48= Arginin Inkubasi 48 jam.

luas dibandingkan isolat bakteri permukaan. Bakteri simbiosis yang berasal dari permukaan spons populasinya lebih sedikit diduga karena ketersediaan nutrisi dan membutuhkan daya pertahanan yang lebih tinggi untuk mengatasi predator, kompetitor ataupun *biofouler*. Bakteri permukaan juga merupakan bakteri yang tidak spesifik dengan inangnya dan memiliki kemiripan dengan komunitas mikroba yang berada di lingkungan perairan dimana spons tersebut berada. Bakteri ini menggunakan *signal quorum sensing* untuk berinteraksi dengan spons. Kebanyakan bakteri Gram negatif menggunakan *acyl homoserine lactone* (AHL) sebagai media untuk berkomunikasi dengan bakteri lainnya hingga mencapai kepadatan tertentu hingga dapat berasosiasi dengan organisme eukariot laut seperti spons (Taylor et al., 2007).

Kemampuan isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. dalam menghambat pertumbuhan mikroba target, merupakan bentuk aktivitas antagonis yang diduga dilakukan dengan

menghasilkan kandungan senyawa yang bersifat antimikrobia. Biosintesis senyawa antimikrobia berperan penting dalam proses pelekatan, kolonisasi target hingga kompetisi dalam mendapatkan ruang dan nutrisi dengan mikroba lainnya (Loong dan Farook, 2001; Romanengko et al., 2008). Beberapa isolat asal spons *Jaspis* sp. memiliki aktivitas antimikrobia yang baik, yaitu mampu menghambat minimal lima pertumbuhan mikroba target dengan baik. Lima isolat dengan aktivitas antimikrobia terbaik adalah SAB E-8, SAB E-35, SAB E-38, SAB E-40, dan SAB S-43. Kelima isolat tersebut diharapkan dapat menjadi sumber senyawa bioaktif baru yang dapat dikembangkan dalam bidang farmasi dan biomedik. Beberapa strain bakteri yang diisolasi dari spons *Haliclona* sp. dan *Aptos* sp., juga menunjukkan kemampuan antagonis terhadap beberapa strain Multi Drug Resistant gram positif dan negatif (Radjasa et al., 2007a; 2007b).

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, isolat SAB E-8, SAB E-35 dan SAB E-40 merupakan bakteri

Gram negatif, sedangkan isolat SAB E-38 dan SAB S-43 merupakan bakteri Gram positif. Karakterisasi isolat dilanjutkan dengan uji fisiologis dengan menggunakan *Identification Strip*. Berdasarkan hasil uji fisiologis menunjukkan isolat SAB E-8, SAB E-35 dan SAB E-40, termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Isolat yang menunjukkan Gram positif, dilanjutkan dengan karakterisasi parsial pengecatan spora dan uji katalase untuk genus *Bacillus*. Uji parsial yang mengarah ke genus *Bacillus*, didasarkan pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri Gram positif simbiosis spons dan bersifat antagonis terhadap beberapa mikroba target merupakan kelompok *Bacillus*. Hasil pengecatan spora, katalase dan uji fisiologi menggunakan *Identification strip* yang telah diidentifikasi menggunakan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1994), menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut adalah *Bacillus*, dicirikan oleh sel yang berbentuk batang, pewarnaan Gram positif, terdapat endospora yang terletak pada bagian sentral dan uji katalase positif.

Reaksi positif ditunjukkan oleh keempat isolat pada uji katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas pada objek kaca yang telah ditetesi hidrogen peroksida. Keempat isolat tersebut menunjukkan aktivitas dari enzim katalase yang mampu mendegradasi hidrogen peroksida. Selama respirasi aerobik, mikroba menghasilkan hidrogen superoksida yang dalam kasus tertentu merupakan superoksida yang sangat toksik. Akumulasi senyawa itu dapat menyebabkan kematian bila tidak segera didegradasi. Senyawa ini dihasilkan bila mikroba aerobik, anaerobik fakultatif dan mikroaerofilik menggunakan lintasan respirasi aerobik dengan oksigen sebagai akseptor terakhir dan selama degradasi karbohidrat untuk menghasilkan energi. Mikroba aerobik yang tidak mempunyai katalase dapat mendegradasi terutama superoksida toksik dengan enzim superoksida dismutase dan produk akhir adalah H₂O yang kurang toksik dibandingkan superoksida yang lain. Dengan adanya katalase maka timbul gelembung gas dari oksigen bebas (O₂) (Cappucino, 2001).

Kesimpulan

Sebanyak 138 isolat bakteri simbiosis spons *Jaspis* sp. yang masing-masing terdiri dari 70 isolat dan 68 isolat permukaan telah berhasil diisolasi. 32 (45,71%) isolat bakteri endofit dan 20 (29,41%) isolat bakteri permukaan dari total isolat menghasilkan senyawa antimikrob terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan EPEC K-11 serta khamir *Candida albicans* dan *C. tropicalis*. Lima isolat terbaik terdiri

dari empat isolat endofit yaitu SAB E-8, SAB E-35, SAB E-38, dan SAB E-40 serta satu isolat permukaan yaitu SAB S-43. Karakterisasi berdasarkan pengecatan gram, spora dan uji fisiologi menggunakan *Identification Strip* menunjukkan isolat SAB E-8, SAB E-35 dan SAB E-40 adalah genus *Pseudomonas* sedangkan isolat SAB E-33, SAB E-38 dan SAB S-43 merupakan genus *Bacillus*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr.dr. Sri Budiarti-IPB dan Dr. Widanarni-IPB yang telah menyediakan bakteri target, yaitu masing-masing EPEC K-11 dan *Vibrio harveyi*.

Daftar Pustaka

- Castro, P., & Huber, M.E. 2005. *Marine Biology*, Fifth edition. The Mc Graw Hill Companies.
- Cappucino, G.J., & Sherman, N. 2001. *Microbiology (A Laboratory Manual)*. Cummings Publishing Company Inc. New York.
- Ereskovsky, A.V., Elizaveta, G., & Andrey, V. 2005. Morphological evidence for vertical transmission of symbiotic bacteria in the viviparous sponge *Halisarca dujardini* Johnston (Porifera, Demospongiae, Halisarcida). *Mar. Biol.*, 146: 869–875.
- Hentschel, U., Schmid, M., Wagner, M., Fieseler, L., Gernert, C., & Hack, J. 2001. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. *FEMS Microbiology Ecology*, 35: 305–312.
- Kanagasabhapathy, M., Hideaki, S., Kazuhiko, N., Kumiko, N., & Shinichi, N. 2005. Inhibitory activity of surface bacteria isolated from the marine sponge *Pseudoceratia purpurea*. *Microbes Environ.*, 20: 178–185.
- Kim, T.K., Hewavitharana, A.K., Shaw, P.N., & Fuerst, J.A. 2006. Discovery of a new source of rifamycin antibiotics in marine sponge actinobacteria by phylogenetic prediction. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 2118–2125.
- Long, R.A., & Farook, A. 2001. Antagonistic Interactions among Marine Pelagic Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 4975–4983.

- Marinho, P.R., Paula, A., Moreira, B., Lúcia, F., Costa, P., & Muricy, G. 2009. Marine *Pseudomonas putida*: a potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 104: 678-682.
- Magnino, G., Anthonio, S., Tisza, L., & Elda, G. 1999. Endobiont of coral reef sponge *Theonella swinhoe* (Porifera, Demospongia). *Invert. Biol.*, 18: 213-220.
- Miyashiro, Ikegami S. 1994. Antibacillus substance in *Hyatella* species, produced by an associated *Vibrio* species bacterium. *Microbios.*, 78: 7-16.
- Montalvo, N.F., Mohamed, N.M., Enticknap, J.J., & Russel, T.H. 2005. Novel actinobacteria from marine sponges. *Antonie van Leeuwenhoek*, 87: 29-36.
- Osinga, R. Evelyn, A. Grant, B. Friederike, H. & Gabriela S.K. 2001. Sponge-microbe associations and their importance for sponge bioprocess engineering. *Hydrobiologia*, 461: 55-62.
- Radjasa, O.K, Kencana, D.S., Sabdono, A., Hutagalung, R.A & Lestari, E.S. 2007a. Antibacterial Activity of Marine Bacteria Associated with sponge *Aaptos* sp. against Multi Drugs Resistant (MDR) Drugs Resistant (MDR) strains. *North* (2007):1-6.
- Radjasa, O.K., Sabdono, A. & Junaidi, J. 2007b. Richness of Secondary Metabolite-Producing Marine Bacteria Associated with Sponge *Halicona* sp. *Int. Journal of Pharmacology*, 3(3): 275-279.
- Romanengko, L.A., Naoto, T., Masataka, U., Natalia, I.K., & Valery, V.M., 2008. Diversity and antagonistik activity of sea ice bacteria isolated from the sea of Japan. *Microbiol. Environ.*, 23: 209-214.
- Taylor, M.W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M., 2007, Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol. Mol. Bio. Reviews*, 2: 295- 347.
- Wahl, M., Jensen, P.R., Fenical, W. 1994. Chemical control of bacterial epibiosis on Ascidians. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 110: 45-57.
- Zhang, H., Lee, Y.K., Zhang, W., & Lee, H.K. 2006. Culturable actinobacteria from the marine sponge *Hymeniacidon perleve*: isolation and phylogenetic diversity by 16S rRNA gene-RFLP analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 90: 159-169.